

**UFRRJ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE  
TRANSGLUTAMINASE NO PROCESSAMENTO DE MEDALHÕES DE  
SALMÃO**

**ADMILSON COSTA DA CUNHA**

**2010**



**INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE  
TRANSGLUTAMINASE NO PROCESSAMENTO DE MEDALHÕES DE  
SALMÃO**

**ADMILSON COSTA DA CUNHA**

*Sob orientação da professora*  
**DSc. Mônica Caraméz Triches Damaso**

*e Co-orientação da Professora*  
**DSc. Arlene Gaspar**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre **em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2010

664

C972a

T

Cunha, Admilson Costa da, 1982-.  
Avaliação dos efeitos da  
Aplicação de Transglutaminase no  
Processamento de Medalhões de Salmão  
/ Admilson Costa da Cunha - 2010.  
82 f.: il.

Orientador: Mônica Caraméz  
Triches Damaso.

Dissertação (mestrado) -  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos.  
Bibliografia: f. 68.

1. Tecnologia de alimentos -  
Teses. 2. Alimentos - Indústria -  
Teses. 3. Pescados - Processamento -  
Teses. 4. Enzimas - Teses. I.  
Damaso, Mônica Caraméz Triches,  
1973-. II. Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Curso de  
Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos. III.  
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**ADMILSON COSTA DA CUNHA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/02/2010

---

DSc. Mônica Caraméz Triches Damaso, Embrapa Agroindústria de Alimentos  
Orientador

---

DSc. Rosalie Reed Rodrigues Coelho, UFRJ  
Membro titular

---

DSc. Pedro Paulo Oliveira Silva, UFRRJ  
Membro titular

---

DSc. Lucielen, UFRRJ  
Suplente

## **Dedico...**

Com amor...  
À meu amigo Claudiney José Rosa que é parte fundamental em minha vida,  
À minha mãe Ivanilda Costa da Cunha,  
Ao meu pai Odair Machado da Cunha por todo incentivo,  
Ao grande Mestre Márcio Ramatiz Lima dos Santos.

## AGRADECIMENTOS

A meu pai Oxalá e todos os amigos espirituais por guiar meus passos, me concedendo força, determinação, paciência e sabedoria para seguir adiante, sempre muita alegria.

À minha Orientadora Mônica Caraméz Triches Damaso pela amizade, orientação e por me receber em seu projeto, depositando confiança em meu trabalho e me possibilitando um aprimoramento profissional, assim como pelos ensinamentos preciosos e incentivos.

A minha co-orientadora Arlene Gaspar pela orientação, confiança, amizade e pela oportunidade de crescimento profissional e enriquecedores ensinamentos.

À grande amiga Ana Maria Dantas, pelo companheirismo, amizade e por me receber desde o início da minha caminhada na Rural, dando forças nos momentos mais difíceis. Sua ajuda foi fundamental, obrigado sempre!

Ao professor Azarias Machado por ter ajudado durante toda minha graduação e propiciado a minha permanência no Alojamento da UFRRJ.

Aos Professores Eduardo Mendes Callado, Ricardo Motta Miranda, Pedro Paulo de Oliveira Silva, Carlos Luiz Massard, Nídia Majerowicz, Aurea Echevarria, Valdomiro Neves Lima por todo apoio e por serem exemplos de pessoas dignas e formadoras do verdadeiro pensamento crítico.

À Professora Rosalie Reed Rodrigues Coelho pelo apoio e por ter me recebido em seu laboratório sempre com muita dedicação e incentivo.

Ao pesquisador Geraldo Baeta pela autenticidade, dedicação e profissionalismo, que me ajudou na fase final deste trabalho.

À Professora Daniela de Grandis pela ajuda na análise sensorial da dissertação.

Ao professor Teófilo José Pimentel da Silva pela ajuda na análise de Textura Instrumental.

Aos grandes amigos Felipe Gustavo Camacho, Ezídio André Basso, Mário Marcos Piratello, Edson de Abreu Teixeira Neto, Flávio Fernandes e Luciano Felix por todo apoio desde o início, que me ajudaram em todos os momentos, sempre com uma palavra de incentivo e

Aos estagiários e grandes amigos Maria Isabel de Souza Oliveira e Gaspar Ramos, pelo companheirismo, disposição e auxílio nos experimentos, foram fundamentais.

Aos amigos companheiros de Mestrado Sabrina Dias, Juarez Vicente, Gabriela Samico, Fernanda Travassos, Vanessa Camarinha e Diego Carneiro, pelo grande apoio, ensinamentos e auxílio durante todo o período de curso.

Aos professores e funcionários técnicos e administrativos pela amizade, apoio e ensinamentos.

Ao técnico do laboratório de físico-química da UFRRJ, Juarez Vicente, por toda ajuda, amizade, disponibilidade e atenção dispensadas nas análises.

A todos os pesquisadores, professores, funcionários, técnicos e amigos que estiveram presentes e me auxiliaram direta ou indiretamente em todo esse processo, acrescentando para minha formação profissional e de vida.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos, a Empresa AJINOMOTO pela doação da Enzima transglutaminase TG ® GS e a UFRRJ pelo auxílio no projeto desenvolvido.

O meu muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

**Admilson Costa da Cunha**, filho de Ivanilda Costa da Cunha e Odair Machado da Cunha, nasceu dia 07 de janeiro de 1982, na cidade de Britânia, Estado de Goiás.

Técnico em Agroindústria, formado pela Escola Agrotécnica Federal de Ceres – GO atual IFET Goiano, Campus de Ceres - GO, onde se destacou com trabalhos na área de aproveitamento de subprodutos de origem agropecuária 2001 – 2003. Ingressou no curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas em outubro de 2003 na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, concluindo no ano de 2007.

Em maio de 2008, iniciou sua atuação como professor substituto na Disciplina de Indústrias Rurais do Colégio Técnico da UFRRJ.

Em dezembro de 2009 foi aprovado como professor efetivo do Instituto de Educação, Ciências e Tecnologia de Cáceres – MT, ministrando a Disciplina de Agroindústria.

Tem experiência na área de Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais 2001 – 2003, Ciência e Tecnologia de Alimentos 2003 – 2004, com ênfase em Beneficiamento 2005 - 2006, Análise e Processos Físico-Químicos de Alimentos e Biotecnologia Aplicada a Alimentos 2008 – 2010.



## RESUMO

CUNHA, Admilson Costa da. **Avaliação dos efeitos da Aplicação de Transglutaminase no Processamento de Medalhões de Salmão**. UFRRJ, 2010 82p. (Dissertação. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010.

As aparas geradas na filetagem de salmão são consideradas subproduto, porém com grande valor econômico. Objetivou-se a elaboração de medalhões a partir da agregação de aparas de salmão, utilizando-se a enzima comercial transglutaminase (TGase). O processamento dos medalhões foi realizado em sextuplicata, seguindo orientações obtidas em testes preliminares utilizando-se 3 e 15 horas de reação enzimática a 4°C. Elaborou-se três formulações, duas com adição da TGase comercial nas proporções 0,5% (MS1) e 1% (MS2) e o controle (MS3) sem adição de enzima, sendo o restante da formulação mantida constante: 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1% de alho em pó e 1% de cebola em pó. Medalhões de 110g foram elaborados em moldes de PVC de 75mm de diâmetro e 2,5cm de altura. Os medalhões foram analisados após o cozimento em chapa quanto a perda de peso, medida de grau de retração e força de cisalhamento, composição centesimal, análise microbiológica e teste de aceitabilidade. O produto MS2 apresentou a menor perda de peso e grau de retração, e maior força de cisalhamento, porém não estatisticamente significativa entre os demais produtos ( $p > 0,05$ ). O uso da enzima não interferiu na palatabilidade e nas características dos produtos comparando com o controle. À medida que se aumentava a concentração enzimática observou-se uma diminuição no teor de umidade para MS1 (18,75) e MS2 (18,80) em relação ao controle MS3 (17,89), com diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Os teores de cinzas de MS1 (3,32) e MS2 (3,45) foram maiores do que a do controle MS3 (3,11), e estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos MS2 e MS3. O teor de lipídeos apresentou-se significativamente mais elevado ( $p < 0,05$ ) entre si. O teor protéico apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) crescentes entre os tratamentos MS1 (18,75) e MS2 (18,80), em relação ao controle MS3 (17,89). O valor calórico foi maior nos produtos MS1 e MS2. A contagem microbiana indicou ausência de coliformes (total e fecal), *Estafilococos* catalase positiva e *Salmonella sp*, para os tratamentos. A aceitabilidade dos produtos foi excelente, pois 97,3% dos 112 provadores afirmaram que comprariam os produtos. Os produtos elaborados com 0,5% e 1,0% de enzima obtiveram ótima aceitabilidade em comparação ao controle. Nos quesitos aparência global, aroma, sabor e textura, o medalhão MS2 foi o que recebeu melhor aceitação em comparação com o controle MS3, com médias de 7,8, 7,6, 8,1 e 8,1 respectivamente, com a declaração dos provadores de terem gostado muitíssimo do produto. Quanto à aparência e aroma não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Em relação ao sabor e textura observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sobretudo para o tratamento MS2 em relação ao padrão MS3. Observou-se correlação positiva ( $R = 0,87$ ) entre a força de cisalhamento e as médias de textura atribuídas pelos provadores. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que a aplicação da TGase na elaboração de medalhões a partir de aparas de salmão apresentou grande potencial, principalmente na concentração de 1%, formando um produto viável tecnicamente e com boa aceitabilidade pelo consumidor.

**Palavras-chave:** Biocatalisador, pescado, processamento de alimentos, aparas de salmão.

## ABSTRACT

CUNHA, Admilson Costa. Assessment of the effects of the Application of Transglutaminase in Processing medallions of Salmon. UFRRJ, 2010, 82p. (Dissertation. Master of Science and Food Technology) Institute of technology, Department of food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010.

The trimmings generated in the filleting of salmon are considered by-product, but with high economic value. The objective of this work was the elaboration of medallions from the aggregation of salmon trimmings using commercial transglutaminase enzyme (TGase). The processing of medallions was carried out in six times, following the guidelines obtained in preliminary tests using 3 and 15 hours of enzymatic reaction at 4 ° C. Three formulations were elaborated, two with the addition of the commercial TGase in proportions of 0.5% (MS1) and 1% (MS2) and a control (MS3) without addition of enzyme. The remainder of the formulation has remained constant with: 1.5 % salt, 0.4% polyphosphate, 1% of garlic powder and 1% of onion powder. Medallions of 110g were elaborated in a mold of PVC with 75mm in diameter and 2.5 cm high. The medallions were analyzed after baking sheet for weight loss and measure of degree of shrinkage, shear force, centesimal composition, microbiological and acceptability test. The MS2 product had the lowest weight loss and degree of retraction, and higher shear force, although not statistically significant among the other products ( $p > 0.05$ ). The use of the enzyme did not affect the flavor and characteristics of the products compared with the control. With increasing in the enzyme concentration there was a decrease in moisture content for MS1 (18.75) and MS2 (18.80) in relation to the control MS3 (17.89), with significant difference between treatments ( $p < 0.05$ ). The ash content of MS1 (3.32) and MS2 (3.45) were higher than the control MS3 (3.11) and statistically different ( $p < 0.05$ ) between treatments MS2 and MS3. The lipid content was significantly higher ( $p < 0.05$ ) between them. The protein content showed significant differences ( $p < 0.05$ ) increased between treatments MS1 (18.75) and MS2 (18.80) compared to the control MS3 (17.89). The calorific value was higher in products MS1 and MS2. The microbial analysis indicated the absence of coliforms (total and fecal), catalase-positive staphylococci and *Salmonella sp*, for the treatments. The acceptability of the products was excellent, since 97.3% of the 112 tasters said they would buy the products. The products produced with 0.5% and 1.0% of the enzyme obtained great acceptance as compared to the control. In the issues of overall appearance, aroma, flavor and texture, MS2 was the medallion that received more acceptability compared with the control MS3, with averages of 7.8, 7.6, 8.1 and 8.1 respectively, with the tasters statement that had loved the product. The results for appearance and aroma were not significant differences between treatments ( $p > 0.05$ ). Flavor and texture showed significant difference ( $p < 0.05$ ), especially for the treatment MS2 compared to control MS3. There was a positive correlation ( $R = 0.87$ ) between shear force and the average texture assigned by the tasters. Based on these results, it was found that the use of TGase in the development of medallions from trimmings of salmon showed great potential, especially at a concentration of 1%, forming a product technically feasible and with good acceptability by the tasters.

**Key-words:** Biocatalyst, fish, food processing, salmon trimmings.

## LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

<b>TGase</b>	Transglutaminase
<b>DTA</b>	Departamento de Tecnologia de Alimentos
<b>ACTIVA TG</b>	Transglutaminase Comercial da Ajinomoto
<b>TAM</b>	Taxa Anual Média
<b>Kcal</b>	Kilocaloria
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>CMS</b>	Carne Mecanicamente Separada
<b>BPFs</b>	Boas Práticas de Fabricação
<b>ITAL</b>	Instituto de Tecnologia de Alimentos
<b>CRA</b>	Capacidade de Retenção de Água
<b>EPA</b>	Ácidos graxos eicosapentaenóico
<b>DHA</b>	Ácidos graxos docosaexaenóico
<b>AGPIs</b>	Ácidos graxos poliinsaturados
<b>FC</b>	Força de cisalhamento
<b>kgf</b>	Kilograma Força
<b>pH</b>	Potencial de Hidrogênio
<b>VM – VP</b>	Vermelho de metila- voges proskauer
<b>NMP</b>	Número mais provável
<b>EC</b>	Caldo para determinação de <i>E. coli</i>
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>SSA</b>	<i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> de alimentos
<b>TSI</b>	Agar tríplice açúcar ferro
<b>LIA</b>	Agar lisina ferro
<b>BPLS</b>	Agar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose
<b>TSB</b>	Triplicase soja
<b>BHI</b>	Caldo cérebro coração
<b>EDTA</b>	Acido etilenodiamino tetra-acético

## LISTAS DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Produtos e resultados obtidos com a aplicação da Transglutaminase.	<b>7</b>
<b>Tabela 2.</b>	Reação da transglutaminase com algumas proteínas alimentares.	<b>8</b>
<b>Tabela 3.</b>	Dados de nutrientes do Salmão ( <i>Salmo salar</i> ).	<b>13</b>
<b>Tabela 4.</b>	Teor de EPA e DHA em algumas espécies de peixes	<b>14</b>
<b>Tabela 5.</b>	Formulações para avaliação da ação do sal, fosfato, tempo de ação da Transglutaminase e ação do vácuo.	<b>15</b>
<b>Tabela 6.</b>	Formulações com adição de condimentos, tempo de reação enzimática de 3h e sem vácuo.	<b>16</b>
<b>Tabela 7.</b>	Formulações para elaboração dos medalhões de salmão.	<b>16</b>
<b>Tabela 8.</b>	Determinação da perda de peso (PP) e médias do grau de retração (GR) dos produtos.	<b>24</b>
<b>Tabela 9.</b>	Determinação da perda de peso e grau de retração dos medalhões após processo de fritura.	<b>25</b>
<b>Tabela 10.</b>	Teste de aceitabilidade para formulação T2MS1.	<b>26</b>
<b>Tabela 11.</b>	Teste de aceitabilidade para formulação T2MS2.	<b>27</b>
<b>Tabela 12.</b>	Teste de aceitabilidade para formulação T2MS3.	<b>27</b>
<b>Tabela 13.</b>	Media de PP, GR, e FC dos medalhões de Salmão fritos em chapa de ferro	<b>29</b>
<b>Tabela 14.</b>	Teores médios da composição centesimal e valor calórico de medalhões elaborados com aparas de salmão.	<b>30</b>
<b>Tabela 15.</b>	Análise Microbiológica dos medalhões de salmão (MS1, MS2 e MS3)	<b>31</b>
<b>Tabela 16.</b>	Médias atribuídas pelos provadores aos medalhões de salmão	<b>31</b>

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Cultura <i>Bacillus subtilis</i> .	<b>3</b>
<b>Figura 2.</b>	Cultura de <i>Streptomyces SP</i>	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b>	Modo de ação da transglutaminase: <b>a)</b> Modo de ação geral da enzima. <b>b)</b> Ligações cruzadas entre resíduos de lisina e glutamina em proteínas ou peptídeos. <b>c)</b> Reação entre resíduo de glutamina e amins primárias	<b>5</b>
<b>Figura 4.</b>	Aplicação de Transglutaminase microbiana (TG): (a) Bife Reestruturado a Partir de Pequenos pedaços de Suínos; (b) tipo de Marisco.	<b>6</b>
<b>Figura 5.</b>	Fluxograma de elaboração dos medalhões.	<b>17</b>
<b>Figura 6.</b>	Warner – Bratzler Meat Shear Móbil 3000	<b>18</b>
<b>Figura 7.</b>	Efeito da TGase em produto reestruturado de aparas de salmão.	<b>26</b>
<b>Figura 8.</b>	Fotos (a) sanitização das formas, (b) recepção da matéria – prima, (c) divisão dos tratamentos em bancada, (d) adição da TGase comercial e dos condimentos, (e) acondicionamento nas formas (f) incursão do vácuo nas embalagens.	<b>28</b>
<b>Figura 9.</b>	Índice de aprovação dos medalhões quanto a aparência, aroma, sabor e textura.	<b>32</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivo geral	1
1.2. Objetivos específicos	1
1.3. justificativas	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>2</b>
2.1. Transglutaminase	2
2.2. Microrganismos produtores de transglutaminase	2
2.3. Transglutaminase: forma de atuação, efeitos e aplicação	4
2.4. Recursos naturais pesqueiros	9
2.5. Composição do pescado	10
2.6. Produção de salmão (Salmo sollar)	11
2.7. Informação nutricional do salmão (Salmo sallar)	11
2.8. Produção e destino de resíduos da indústria pesqueira	14
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>15</b>
3.1. Materiais	15
3.2. Métodos	15
3.2.1. Testes preliminares para determinação dos ingredientes da formulação, tempo de reação enzimática e ação de vácuo	15
3.2.2. Elaboração do medalhão de salmão: etapa final	16
3.2.3. Perda de peso e medida do grau de retração no processo de fritura	17
3.2.4. Determinação da Força de cisalhamento – FC	18
3.2.4.1. Preparo das amostras para determinação da Força de cisalhamento - FC	18
3.2.5. Composição centesimal	19
3.2.5.1. Determinação da Umidade por secagem em estufa	19
3.2.5.2. Determinação de Cinzas	19
3.2.5.3. Lipídeos ou extrato etéreo com hidrólise ácida prévia - Método A	20
3.2.5.4. Proteína - Método de Kjeldahl Clássico	20
3.2.6. Análise microbiológica	21
3.2.7. Análise sensorial	22
3.2.8. Aspectos éticos da pesquisa	22
3.2.9. Análise Estatística	23
<b>4. RESULTADO E DISCUSSÃO</b>	<b>24</b>
4.1. Avaliação dos testes preliminares para determinação dos ingredientes da formulação, tempo de reação enzimática e ação de vácuo	24
4.2. Avaliação da elaboração do medalhão de salmão na etapa final	28
4.2.1. Grau de aceitabilidade dos medalhões	28
4.2.2. Composição centesimal dos medalhões	29
4.2.3. Avaliação microbiológica dos medalhões	31
4.2.4. Grau de aceitabilidade dos medalhões	31
<b>5. CONCLUSÃO</b>	<b>33</b>
<b>6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>34</b>
<b>7. ANEXOS</b>	<b>40</b>

## ANEXOS

<b>Anexo – A.</b>	Protocolo de Experimentação Envolvendo Seres Humanos	<b>40</b>
<b>Anexo – B.</b>	Análise estatística dos dados da composição centesimal dos medalhões de salmão: produto MS1 - (EXCEL)	<b>45</b>
<b>Anexo – C.</b>	Análise estatística dos dados da composição centesimal dos medalhões de salmão: produto MS2 - (EXCEL)	<b>46</b>
<b>Anexo – D.</b>	Análise estatística dos dados da composição centesimal dos medalhões de salmão: produto MS3 – (EXCEL)	<b>48</b>
<b>Anexo – E.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para perdas durante a fritura dos medalhões	<b>50</b>
<b>Anexo – F.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para textura dos medalhões	<b>51</b>
<b>Anexo – G.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para umidade dos medalhões	<b>52</b>
<b>Anexo – H.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para Cinzas dos medalhões	<b>53</b>
<b>Anexo – I.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para Lipídeos dos medalhões	<b>54</b>
<b>Anexo – J.</b>	Teste de Tukey e ANOVA para Proteína dos medalhões	<b>55</b>
<b>Anexo – L.</b>	Ficha para teste de aceitabilidade	<b>56</b>
<b>Anexo – M.</b>	Análise Estatística do teste de aceitabilidade dos medalhões de salmão (Aparência: MS1, MS2 e MS3)	<b>57</b>
<b>Anexo – N.</b>	Análise Estatística do teste de aceitabilidade dos medalhões de salmão (Aparência: MS1, MS2 e MS3)	<b>60</b>
<b>Anexo – O.</b>	Análise Estatística do teste de aceitabilidade dos medalhões de salmão (Sabor: MS1, MS2 e MS3)	<b>63</b>
<b>Anexo – P.</b>	Análise Estatística do teste de aceitabilidade dos medalhões de salmão (Textura: MS1, MS2 e MS3)	<b>66</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

As enzimas são utilizadas em vários setores da indústria de alimentos, como no processamento de frutas, hortaliças, grãos, dentre outros. A aplicação de enzimas em tecnologia de alimentos é uma alternativa consistente aos processos convencionais, por se tratar de um processo que consome pouca energia, melhora a qualidade de vários produtos, aumenta rendimento do processo e causa um mínimo de impacto ambiental.

O Brasil é o 27º produtor mundial de pescados, com aproximadamente 513.430 ton/ano (ICEPA, 2004). Segundo a FAO (2004ab) o Brasil apresenta-se com o 4º maior índice de crescimento anual no setor aquícola com produção de 246.200 toneladas em 2002, principalmente camarão (carcinicultura), ostra (malacocultura), mexilhão (mitilicultura) e peixes (piscicultura) de água doce.

Atualmente, a indústria processadora de pescado vem aumentando a diversificação de seus produtos, como a filetagem, o que gera uma percentual maior de aparas e fragmentos de musculatura, que necessita ter uma utilização mais adequada do que a produção de farinha.

A aplicação de biocatalisadores na elaboração de produtos a partir de aparas e subprodutos advindos da aquíicultura surge com grande potencial mercadológico, pois cria oportunidades de agregar valor, além de conferir melhorias nos processos e nas características sensoriais em uma gama de alimentos.

### **1.1. Objetivo geral**

Avaliar o potencial de reestruturação da transglutaminase comercial durante sua aplicação em aparas de Salmão (*Salmo salar*) para elaboração de medalhões comerciais.

### **1.2. Objetivos específicos**

- Elaborar medalhões a partir de aparas de Salmão utilizando a transglutaminase comercial;
- Avaliar perdas de peso e grau de retração durante o cozimento dos medalhões;
- Avaliar a força de cisalhamento através de aparelho texturômetro de Warner;
- Determinar a composição centesimal dos medalhões crus;
- Determinar a contagem microbiana 15 dias após a elaboração dos medalhões;
- Analisar sensorialmente os medalhões após cozimento.

### **1.3. Justificativa**

Nos últimos anos, a produção de pescado e produtos derivados apresentou um forte crescimento, refletindo na obtenção de quantidade significativa de aparas, sem uma aplicação definida. Este projeto de pesquisa visa agregar valor às aparas obtidas na industrialização de Salmão. O momento político, científico e tecnológico do país está propício ao desenvolvimento de projetos, que não fiquem restritos somente a pesquisa laboratorial, mas que tenham um cunho prático e de inovação tecnológica com grande aplicação para a industrialização e comercialização de produtos.



## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. Transglutaminase**

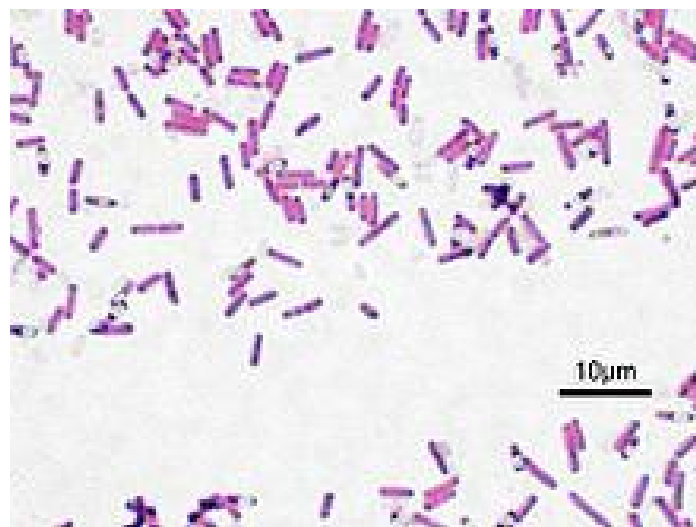
A enzima transglutaminase (TGase) é encontrada em vários organismos, variando de bactérias a mamíferos (LIN et al., 2006), incluindo a extração de TGase de fluidos corpóreos de vários animais (MOTOKI e SEGURO, 1998). A enzima de origem animal, obtida a partir do porquinho da Guiné, foi a fonte exclusiva de produção da enzima por décadas. A escassez dessa fonte, os difíceis processos de separação e purificação, adicionados ao fato de serem cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dependentes e ao preço extremamente alto do produto, levaram a recentes esforços no sentido de se produzir a TGase por microrganismos (YAN et al., 2005).

A produção de TGase por manipulação genética utilizando microrganismos geneticamente modificados (LIN et al., 2006; DATE et al., 2004) tem sido motivada com o intuito de produzir altas quantidades de enzimas a preços reduzidos. No entanto, ainda existem dificuldades em se comercializar as referidas enzimas em decorrência de fatores de regulação de alimentos e aceitabilidade pelo consumidor (MOTOKI e SEGURO, 1998). Uma opção a considerar consiste na seleção de microrganismos produtores de TGase. Vários pesquisadores têm procurado por microrganismos com essa característica. Os primeiros microrganismos a serem selecionados para produção de TGase foram actinomicetos como *Streptovercillium mobaraense* e *Streptovercillium griseocarneum* (YAN et al., 2006), porém já se tem conhecimento de linhagens de *Bacillus* (SOUZA et al., 2006) que também apresentaram essa capacidade.

No Brasil existe disponível no mercado uma enzima transglutaminase, a Activa TG ® GS produzida por fermentação a partir dos microrganismos citados acima, desenvolvida pela empresa japonesa Ajinomoto que liga pedaços de carne, consegue reestruturá-los e transformá-los em uma peça única, sem interferir no sabor, aroma ou qualquer outra característica do alimento. Esta enzima têm algumas indicações para sua atividade como faixa de pH entre 4 – 9, sendo ótimo entre 6 e 7; temperatura de 45°C e 55°C, com ótimo de 50°C (PAYNE, 2000ab). Porém, poucas indústrias utilizam-na devido o seu alto custo.

### **2.2. Microrganismos produtores de transglutaminase**

As bactérias estão envolvidas em várias aplicações tecnológicas e na questão de segurança dos alimentos. A linhagem *Bacillus subtilis* (Figura 1) é uma bactéria habitante natural do solo, produz antibióticos, enzimas e fitohormônios que proporcionam benefícios para as plantas. Essa espécie microbiana é também descrita como rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCP) (ARAUJO, 2008), é uma bactéria gram-positiva, saprófita comum também na água. Organismo esporulado, não patogênico, graças à sua termofilia é utilizado no monitoramento e validação de ciclos de esterilização por calor (Grupo controle). Possui boa produção e produtividade sendo uma importante alternativa na produção de biocatalisadores aplicáveis na tecnologia de alimentos (SOARES, et al., 2001).



**Figura 1.** Cultura de *Bacillus subtilis*  
**Fonte:** UFRGS (2008)

Os actinomicetos são procariotas, Gram positivos, que apresentam características importantes para o controle biológico e promoção de crescimento de plantas, como a capacidade de produção de antibióticos, produção de enzimas com ação antimicrobiana, produção de substâncias promotoras de crescimento, decomposição da matéria orgânica, além de produzirem esporos que são estruturas de reprodução. Possui uma faixa ótima de pH para o seu desenvolvimento entre 6,5 e 8,0 sendo pH 5,0 limitante para o crescimento da maioria das espécies em meio de cultura (LIMA, 2003)

Os actinomicetos desempenham diversos papéis no solo. Representantes do gênero *Frankia*, fixam o nitrogênio atmosférico (ROJAS et al., 1992). No entanto, a maior importância desses microrganismos está relacionada com a produção de antibióticos, enzimas e inibidores enzimáticos (GAVA e NEVES, 2002).

As vantagens da utilização de microrganismos, incluindo os actinomicetos na produção de enzimas em substituição as tradicionais fontes animais e vegetais, são o rendimento relativamente alto, eficiência de custos e susceptibilidade a manipulação genética. A procura por actinomicetos produtores de enzimas de interesse remonta aos anos de 1950 (BON, 2008). Ao longo dos anos, trabalhos têm sido realizados com estes microrganismos para produção de várias enzimas, incluindo as celulases (LIMA et al., 2005), peptidases (WANG et al., 2003), xilanases (NASCIMENTO et al., 2003) e transglutaminases (YAN et al., 2006).



**Figura 2.** Cultura de *Streptomyces* sp.

Fonte: <http://portalmie.com/escoteiros/2009/04/02/bacteria-parte-11-125-136/>

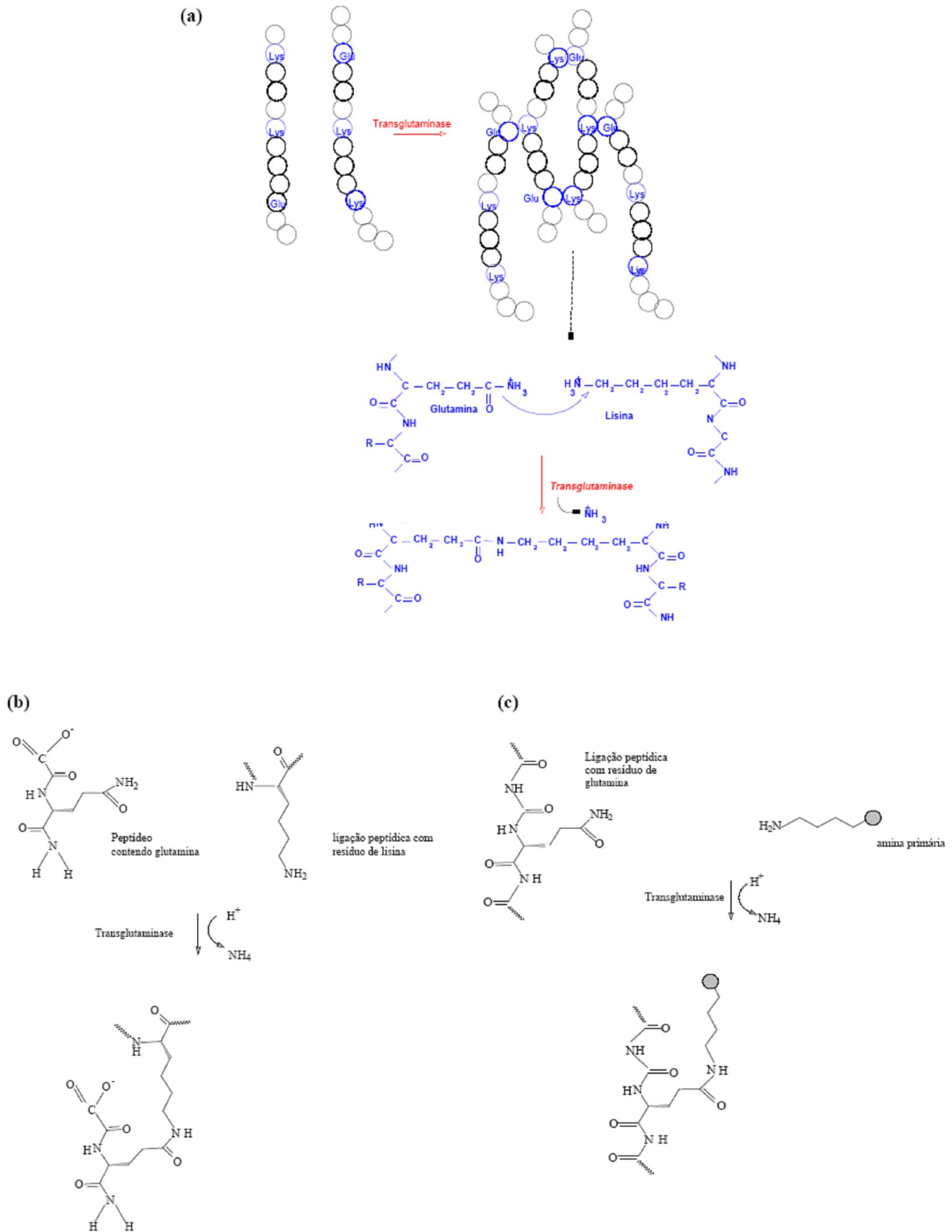
### **2.3. Transglutaminase: forma de atuação, efeitos e aplicação**

A TGase é uma enzima que catalisa reações de transferência de um grupo acil introduzindo ligações cruzadas covalentes entre proteínas, bem como peptídeos e várias aminas primárias (MOTOKI e SEGURO, 1998).

A ação da TGase causa um efeito polimerizante em alimentos ricos em proteína. Este efeito origina mudanças físicas em suas estruturas aumentando consideravelmente o seu valor agregado (DONDERO et al., 2006).

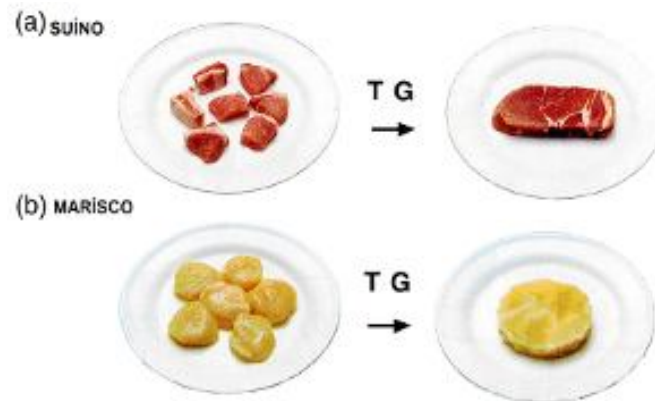
No mecanismo de reação catalisada pela TGase, o grupo tiol de uma cisteína ataca a cadeia lateral de um resíduo de glutamina acessível no substrato protéico, formando um complexo acil-enzima e amônia. No passo seguinte, uma amina primária entra no lugar da enzima formando uma glutamina carboxamida modificada. Se a ligação protéica envolve a lisina, a ligação cruzada entre peptídeos, intra ou inter molecular, ocorre via N ( $\gamma$ - glutamínil) L-lisina. Dessa forma, as reações com TGase levam a formação de agregados protéicos irreversíveis, sendo muito importante a regulação da ação desta enzima nos organismos (PASTERNAK, 1998).

A Figura 3 (a, b, c) ilustra o modo de ação da TGase.



**FIGURA 3.** Modo de ação da transglutaminase. **a)** Modo de ação geral da enzima. **b)** Ligações cruzadas entre resíduos de lisina e glutamina em proteínas ou peptídeos. **c)** Reação entre resíduo de glutamina e amins primárias

A aplicação da transglutaminase na elaboração de um produto melhora sua textura, permite a reestruturação de aparas e pedaços de carnes, resultando em um produto similar a carne “in natura” (Figura 4). Melhora a suculência e palatabilidade, possui um forte poder de ligação que permanece mesmo quando os alimentos são congelados, ou cozidos, e, além disso, pode ser usada em todos os tipos de carnes sem comprometer seu sabor e aroma (BEIRÃO, 1986).



**Figura 4.** Aplicação de transglutaminase microbiana em: (a) bife reestruturado a partir de pequenos pedaços de carne suína; (b) tipo de marisco

**Fonte:** MOTOKI e SEGURO (1998)

Os efeitos desta reestruturação aumentam o interesse da aplicação da enzima tanto na esfera acadêmica quanto nos diferentes setores industriais: avícola (TRESPALACIOS e PLA, 2005), bovino (DONDERO et al., 2006), de pescado, de laticínios, de soja e de panificação (MOTOKI e SEGURO, 1998). Além disso, as reações mediadas por TGase geram produtos com capacidade de formar gel, com novas texturas e viscosidades, além de aumentar a resistência física e a estabilidade térmica de certos alimentos (DONDERO et al., 2006; TRESPALACIOS, 2007; PLA, 2005; MOTOKI e SEGURO, 1998; ZHU et al., 1995). Na Tabela 1 estão apresentados alguns produtos e os efeitos causados pela aplicação da transglutaminase e na Tabela 2 o nível de reatividade que a enzima possui com diferentes fontes protéicas

**Tabela 1.** Produtos e resultados obtidos com a aplicação da Transglutaminase.

<b>PRODUTOS</b>	<b>OBJETIVOS</b>
<b>LÁCTEOS</b> Iogurte, sorvete, queijo, cremes, sobremesas, biofilmes etc...	Melhorar textura, evitar sinerese, desenvolver produtos e utilizar matérias -primas de baixo valor ou não aproveitadas, etc...;
<b>CÁRNEOS</b> Embutidos e reestruturados, biofilmes;	Melhorar textura, evitar sinerese, desenvolver produtos e utilizar matérias-primas de baixo valor ou não aproveitadas, etc...;
<b>PESCADOS</b> Reestruturados, produtos inovadores	Melhorar propriedades texturais do gel em surimi e desenvolver produtos reestruturados e inovadores, como os já existentes na indústria cárnea (embutidos: salsicha, hambúrguer, etc...);
<b>SOJA</b> Tofu, patês, produtos inovadores;	Melhorar propriedades físicas (texturiais), aumentar vida de prateleira e desenvolver produtos de soja similares aos cárneos;
<b>TRIGO</b> Macarrão, pães, bolos, massas em geral;	Melhorar propriedades físicas (texturais e reológicas).

Fonte: PAYNE, (2000a).

**Tabela 2.** Reação da transglutaminase com algumas proteínas alimentares.

<b>PROTEÍNA</b>	<b>REATIVIDADE</b>
<b>LEITE</b>	
Caseína	Reação excelente
Na-caseinato	Reação excelente
Alfa-Lactalbumina	Reação dependente de condições
Beta-Lactoglobulina	Reação dependente de condições
<b>OVOS</b>	
Ovoalbumina	Reação dependente de condições
Proteína da gema	Reage bem
<b>CARNES</b>	
Mioglobina	Reação dependente de condições
Colágeno	Reage bem
Gelatina	Reage muito bem
Miofibrila: miosina	Reage muito bem
Miofibrila: actina	Reação pobre
<b>SOJA</b>	
11S globulina	Reage muito bem
17S globulina	Reage muito bem
<b>TRIGO</b>	
Gliadina	Reage bem
Glutenina	Reage bem

Fonte: PAYNE. (2000b).

Dentre os fatores que afetam a atividade da enzima transglutaminase, a temperatura de reação ou incubação é um fator determinante no grau de reticulação. Segundo Carvalho e Grosso (2004) durante a gelatinização das proteínas a rede estrutural polimérica é estabilizada por forças secundárias, sendo que a formação da matriz polimérica envolve um delicado balanço entre interações polímero-polímero e polímero-solvente, e este balanço é fortemente dependente do histórico térmico da solução. O contato da enzima com o oxigênio deve ser evitado, pois diminui sua capacidade de ação sobre proteínas.

O pH ótimo da atividade enzimática varia de 5 a 8 e a temperatura ótima de atuação é de 50°C. Porém, em períodos superiores a 12h a enzima consegue atuar em temperaturas abaixo de 10°C. A ação da TGase é independente de  $Ca^{2+}$ , e esta propriedade é importante para modificação das proteínas, porque proteínas como as do leite, globulinas da soja e a miosina são sensíveis e podem se precipitar na presença deste íon (MOTOKI e KUMAZAWA, 2000).

Existem efeitos conhecidos com a aplicação de transglutaminase como o poder de reestruturação de alimentos, promovendo grande capacidade de melhorar as propriedades físicas destes (KIM et al., 1993; ANON, 1996); promove ligações entre proteínas, afetando a geleificação e, por esta razão, possibilita ampla utilização também em carnes e pescados reestruturados (STRYKER E LANIER 1997), formando ligações cruzadas inter e intramoleculares em proteínas, criando moléculas maiores a partir de pequenos substratos protéicos. Estes efeitos resultam em modificações nas propriedades físicas dos alimentos, as

quais proporcionam a texturização e/ou reestrururação de produtos (BURSEY 1996; ALBUQUERQUE, 2002), a formação de polímeros e géis protéicos, além de elevar o valor nutricional (GERRARD, 2002) mediante a incorporação de aminoácidos limitantes no material original.

A TGase tem sido utilizada para catalisar as ligações entre as proteínas como as de soro de leite, de soja, glúten, miosina e actomiosina, proporcionando a modificação das proteínas de alimentos pela enzima, levando a uma alteração da textura nos produtos onde é empregada (ZHU et al 1995). O uso da enzima como agente texturizante, por exemplo, no processamento de salsicha no qual a reticulação de proteínas promove o melhoramento das propriedades viscoelásticas é promissor (KIRK et al., 2002).

Para Bursey (1996) esta enzima catalisa a polimerização da miosina, principal proteína miofibrilar da carne, e outras proteínas presentes no processo, levando a um aumento na capacidade de formação de gel, promovendo a estabilidade das emulsões e uma superior capacidade de ligação (“binding”). Isto garante maior capacidade de retenção de água, que é traduzida em uma textura mais firme, succulenta e com melhor sabor de carne processada.

Sühnel (2007) realizou testes de aceitabilidade de reestruturados (empanados e fritos) com 0,5 e 0,8 % de enzima transglutaminase e também com aglutinador comercial. A perda de água não apresentou diferença significativa, entre os tratamentos. Os resultados obtidos quanto às propriedades mecânicas de textura mostraram que com o aumento na concentração da enzima, obteve-se um efeito melhor na textura, resultando num aumento da firmeza, dureza e coesividade, apresentando diferenças significativas para as diferentes concentrações. Na avaliação sensorial, os reestruturados com 0,5% e 0,8% de transglutaminase obtiveram 84,56% e 86,00% de aceitabilidade, respectivamente, enquanto o reestruturado com aglutinador comercial não foi aceito sensorialmente, com 51,33% de rejeição.

Na produção de carne reestruturada a partir de pedaços de músculo suíno moídos submetidos à aplicação de transglutaminase, KURAIISHI et al. (1997) conseguiram incorporar caseinato de sódio à carne sem a adição de estabilizantes. Este novo produto pode ser cozido, grelhado ou aquecido sob microondas sem alterações estruturais.

Testes com peixes mostraram que o plasma protéico bovino enriquecido com transglutaminase e adicionado ao surimi, mostrou-se bastante eficaz no incremento da geleificação do produto, melhorando a sua textura e inibindo a sua proteólise (SEYMOUR et al., 1997).

Joseph et al (1994) estudaram o efeito da TGase em peixes e verificaram um aumento significativo na geleificação da carne de peixes dependendo da proporção de cadeias de miosina polimerizadas. Entretanto, o efeito da enzima depende das características das cadeias de proteína de cada substrato, pois o desempenho foi diferente para cada espécie.

## **2.4. Recursos naturais pesqueiros**

A crescente e desenfreada exploração dos recursos pesqueiros tem acarretado uma redução de sua disponibilidade. O Brasil, como 27º produtor mundial de pescados, está com uma produção extrativa estagnada em aproximadamente 513.430 toneladas/ano (ICEPA, 2004). Entretanto, com o advento da pesca sustentável e da aquícultura, foi possível evitar a extinção e também possibilitou a introdução de várias espécies no mercado (JORGE, 1997).

Do total de 133 milhões de toneladas de pescado produzido mundialmente em 2002 (captura e aquícultura), 39,8 milhões de toneladas foram obtidos através da aquícultura, um equivalente a US\$ 58,2 bilhões. O Brasil apresentou o 4º maior índice de crescimento neste ano, com taxa anual média de crescimento (TAM) em 2000–2002 de 18,1%, com 176,5mil toneladas em 2000 e 246,2 mil toneladas em 2002. Produzindo principalmente, camarão (carcinicultura), ostra (malacocultura), mexilhão (mitilicultura) e peixes (piscicultura) de água doce (FAO, 2004ab).



Segundo Barreto e Beirão (1999), para manter os níveis atuais de consumo mundial de pescado, isto é, uma média de 13kg/per capita/ano, até o ano de 2010, 91 milhões de toneladas de pescado deverão ser adicionadas para alimentar uma população mundial estimada em 7 bilhões de pessoas.

O beneficiamento do pescado permite aumentar a diversidade de produtos para a comercialização, o controle de qualidade e o aproveitamento de resíduos. De acordo com Bykowski (1990), a separação total ou parcial das partes comestíveis permite obter produtos com forma, tamanho e qualidade exigidos pelo consumidor, prolonga a vida comercial do produto, há maior economia de transporte e aumento em seu valor agregado. O pré-cozimento de filés no Brasil vem sendo utilizado por algumas unidades beneficiadoras de truta como alternativa às formas de comercialização tradicionais, possibilitando o uso de temperos e antioxidantes, além de facilitar o preparo do produto, uma vez que esse processamento também inclui a retirada das espinhas (MACEDO-VIEGAS, 2000).

## **2.5. Composição do pescado**

Do ponto de vista nutricional, o pescado e seus produtos constituem uma importante fonte de proteína de alto valor biológico e de fácil digestão, contendo minerais essenciais como iodo, cobalto, magnésio, zinco entre outros, ácido graxo polinsaturado e vitaminas lipossolúveis (KRAUSE e MAHAN, 1985). Já do ponto de vista alimentício, considera-se que algumas das propriedades tais como textura, comportamento ao cozimento, conservação e perda de sucos da carne no pescado, estão estritamente ligadas à estrutura protéica do músculo e às reações bioquímicas que nele se realizam (HAMM, 1966).

A carne de pescado apresenta boa digestibilidade por conter menos tecido conjuntivo (3%) em comparação com a de mamíferos (17%). Apresenta ainda, em média, 5% de gordura (cerca de 1/3 da apresentada por mamíferos), 26% de proteína, todos os aminoácidos (1 a 5 mg de aminoácidos livres/grama de proteína), elevados teores de vitaminas do complexo B e menos do que 1,5% de matéria mineral, embora seja excelente fonte de cálcio e fósforo (NEIVA, 2009).

Os peixes são classificados em quatro grupos: magros, pouco gordos, de média gordura e de muita gordura, com o teor lipídico variando entre 2 e 14% (caso do salmão criado em cativeiro). Peixes tipicamente magros, como o haddock, dificilmente alcançam o teor de 200mg de ácidos graxos EPA (ácidos graxos eicosapentaenóico) + DHA (ácidos graxos docosaenóico) por 100g de porção comestível. Segundo algumas pesquisas, a quantidade de peixe indicada para uma pessoa se beneficiar dos efeitos dos ácidos graxos polinsaturados (AGPIs) é de pelo menos 400g por semana. Sendo assim, uma dieta balanceada, na qual o pescado é consumido 2 a 3 vezes por semana, supre as necessidades diárias de AGPI D-3, o que contribui para a integridade das membranas celulares e tecidos nervosos, bem como para o bom funcionamento do organismo como um todo (NEIVA, 2009).

O músculo de pescado é formado por fibras, tecido conjuntivo, tecido lipídico e mioglobina, que é o pigmento responsável pela sua coloração e age como reserva de oxigênio. E sua composição é de cerca de 55 a 78 % umidade, 15 a 22 % proteínas, 1 a 15 % lipídios (dependendo da espécie de pescado), dos quais 0,3 a 1 % são fosfolipídios, 1 a 2 % de carboidratos, 0,7 % de sais minerais (CHEFTEL, 1988 e CHEFTEL et al., 1989).

A composição comestível do peixe varia entre 70 a 85% de água, 20 a 25% de proteína, 1 a 10% de gordura, 0,1 a 1% de glicídios e 1 a 1,5% de minerais. Essa composição é altamente variável de espécie para espécie, mas é comum a muitas espécies de peixes, o baixo conteúdo de gorduras e a elevada quantidade de proteínas (OGAWA e MAIA, 1999; BEIRÃO et al., 2002).

Estruturalmente, os músculos do pescado apresentam diferenças fundamentais no arranjo e na união do tecido conectivo, se comparado aos mamíferos. A forma e a microanatomia detalhada variam entre as espécies, mas sua estrutura e unidades macromoleculares são comuns (BEIRÃO, 1986).

As proteínas do músculo compõem-se de proteínas sarcoplasmáticas, que se localizam no plasma muscular, e proteínas miofibrilares, que formam as miofibrilas. As proteínas sarcoplasmáticas são formadas por muitos tipos de proteínas solúveis em água, o chamado conjunto miógeno. Quando se aquece o músculo de pescado, as proteínas sarcoplasmáticas coagulam com o calor e aderem-se às proteínas miofibrilares. Esse fenômeno impede a formação de gel a partir do músculo de pescado. As proteínas miofibrilares são as que formam as miofibrilas e incluem em maior quantidade actina e miosina. Estas proteínas têm papel fundamental na coagulação e formação de gel quando o músculo de pescado é processado (TAHA, 1996).

A habilidade de formar gel é uma indicação muito importante das propriedades funcionais e de textura do músculo de peixe. Porém, fatores como espécies, frescor, entre outros, influenciam nas propriedades gelificantes das proteínas do músculo (SHIMIZU et al., 1981 e YEAN, 1993).

## **2.6. Produção de salmão (*Salmo salar*)**

O salmão é um peixe de grandes dimensões, da família *Salmonidae*. Peculiar dos mares e rios europeus, é muito procurado pela sua apreciada carne rosada e sabor característico. Normalmente, ele atinge cerca de 70cm de comprimento e até 8kg, quando adulto. Seu corpo é delgado e bastante hidrodinâmico, com escamas de cor prateada brilhante e pequenas manchas arredondadas em um tom de prata mais escuro no dorso. Possui uma poderosa cauda, importante nos períodos de reprodução (URENHA Jr, 2009).

O cultivo de salmão e truta está concentrado na Europa e nas Américas, sendo que o volume de produção está alcançando o nível dos peixes capturados, embora a taxa de expansão de cultivo não seja tão alta como na década passada. A indústria está avançada tanto tecnologicamente como comercialmente, e, em muitos países, tem feito esforços sistemáticos para abrir novos mercados. É provável que os custos de produção sejam reduzidos, e que a indústria desenvolva produtos diferentes para novos mercados, permitindo que a expansão da produção continue (FAO, 1999).

A Noruega produz 50% do salmão consumido, e o Chile 20%. Os outros 30% estão divididos entre os Estados Unidos, Canadá, Escócia e os outros países escandinavos. Mais da metade do salmão consumido no mundo provém de viveiros de criação, enquanto a pesca só ocorre de forma massiva no Alasca e na Rússia. No Brasil, pela temperatura das águas litorâneas, uma criação nesses moldes não seria possível (URENHA Jr, 2009).

## **2.7. Informação nutricional do salmão (*Salmo salar*)**

O salmão é basicamente um peixe branco. A sua coloração avermelha é devido a um pigmento chamado astaxantina, produzido através das algas e dos organismos unicelulares, que são ingeridos pelos camarões do mar. O pigmento é armazenado no músculo do camarão ou na casca. Quando os camarões são ingeridos pelo salmão, estes também acumulam o pigmento nos seus tecidos adiposos. Como a dieta do salmão é muito variada, a sua cor natural toma uma enorme variedade de cores, desde branco ou um cor-de-rosa suave a um vermelho vivo (COSTA, 2008).

Segundo Pigott e Tucker (1990) uma forma de definir a classificação de peixes quanto ao teor de lipídeos está baseada na seguinte relação: menor que 2% é considerado um pescado de baixo conteúdo de gordura; entre 2 e 5%, é um pescado moderado em conteúdo de gordura; e maiores que 5%, é considerado um pescado com alto conteúdo de gordura.

O salmão é classificado como um peixe gordo, com teor de gordura variando de 7 a 12%, possuindo um teor elevado de ácidos graxos poliinsaturados. Possui proteínas de elevado valor biológico, que contêm todos os aminoácidos essenciais ao homem e que só podem ser adquiridos através da alimentação. Destaca-se ainda o teor de vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K bem como o seu conteúdo em vitaminas B6 e B12. Nos minerais destacam-se o fósforo e magnésio. A sua forma de consumo, mais comum, até porque se julga ser a mais saudável, é grelhado (COSTA, 2008).

O salmão, por ser um peixe de água fria é uma fonte alimentar rica para os humanos (Tabela 3), destacando-se por ter alto teor de ômega 3, gordura saudável e benéfica especialmente para o sistema cardio-vascular. O salmão é muito conhecido como o peixe do sashimi, pela sua grande finalidade de alimentar os seres humanos, sendo servido cru, com wasabi e shoyu. Os japoneses são seus maiores apreciadores, embora a cultura tenha se espalhado muito (COSTA, 2008).

**Tabela 3.** Dados de Nutrientes do Salmão (*Salmo salar L.*)

<b>Nutrientes Relacionados</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor por 100 g</b>
Água	g	68,90
Calorias	Kcal	183
Proteínas	g	19,90
Lipídios totais (gordura)	g	10,85
Carboidratos, por diferença	g	0
Fibra total dietética	g	0
Cinzas	g	1,05
<b>Minerais</b>		
Cálcio, Ca	mg	12
Ferro, Fe	mg	0,36
Magnésio, MG	mg	28
Fósforo, P	mg	233
Potássio, K	mg	362
Sódio, Na	mg	59
Zinco, Zn	mg	0,4
Cobre, Cu	mg	0,049
Manganês, Mn	mg	0,015
Selênio, Se	mcg	36,5
<b>Vitaminas</b>		
Vitamina C, ácido ascórbico total	mg	3,9
Tiamina	mg	0,34
Riboflavina	mg	0,12
Niacina	mg	7,505
Ácido pantotênico	mg	138
Vitamina B6	mg	0,637
Folato total	mcg	26
Vitamina B12	mcg	2,8
Vitamina A	Ui	50
Vitamina A, ERA	mcg	15
<b>Lipídios</b>		
Ácidos graxos, total saturados	g	2,18
Ácidos graxos, total mono-insaturados	g	3,87
Ácidos graxos, total poli-insaturados	g	3,93
Colesterol	mg	59

**Fonte:** USDA, (2001).

O salmão é rico em ácidos graxos poliinsaturados, principalmente os da família  $\omega$ -3. Dentro da família  $\omega$ -3, encontra-se os ácidos graxos eicosapentanoico (EPA) e docosahexenoico (DHA) (Tabela 4), que apresentam o maior comprimento de cadeia e são altamente poliinsaturados. Estes compostos são encontrados na gordura dos peixes de águas frias e profundas e vêm sendo cada vez mais estudados e reconhecidos por sua ação preventiva das doenças cardiovasculares, principalmente em estudos observacionais (SIMÃO, et al., 2007).

**Tabela 4.** Teor de EPA e DHA em algumas espécies de peixes.

<b>Espécies</b>	<b>EPA (mg/g)</b>	<b>DHA (mg/g)</b>
Salmão cozido	4,1	14,3
Sardinha	4,7	5,1
Truta cozida	2,6	6,7
Tilápia cozida	-	1,3

Ácidos graxos Eicosapentanoico (EPA) e Docosahexenoico (DHA).

Fonte: MARTIN, et. al., 2006.

Diversos estudos mostram uma relação entre o consumo adequado de ácidos graxos  $\omega$ -3 e a proteção cardiovascular, diminuindo os eventos cardiovasculares (infarto, AVC, trombose) e a mortalidade decorrentes deles. Estudos realizados nos EUA pelo Nurses Health Study, avaliou a associação entre o consumo de peixes e o risco de doenças cardíacas em mulheres de 34 a 59 anos, durante 16 anos. As mulheres que consumiram peixes duas a quatro vezes por semana tiveram risco 31% menor de doença cardíaca do que as que consumo foi de uma vez ao mês, e as que consumiram peixes cinco vezes por semana tiveram um risco 45% menor de morrer de doença cardíaca (SIMÃO, et al., 2007; LOTEMBERG, 2009).

A recomendação de ingestão diária de  $\omega$ -3 associada à redução de risco de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs) é de 0,6 a 1,2 g/dia, para ambos os sexos e em todas as faixas etárias (IOM, 2002).

## **2.8. PRODUÇÃO E DESTINO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA**

Diversas pesquisas têm demonstrado uma crescente procura por mecanismos que visem o reaproveitamento de resíduos oriundos da indústria pesqueira. A Carne Mecanicamente Separada de pescado (CMS) é um exemplo de mecanismo bastante utilizado pela indústria de alimentos.

Segundo Brasil (2000), a CMS de pescado é um produto obtido de uma única espécie ou de mistura de espécies de peixes com características sensoriais semelhantes. Isso é feito através de processo de separação mecanizada da parte comestível, gerando partículas de músculo esquelético isentas de vísceras, ossos e pele. A CMS é produzida por tecnologia própria e não deve ser confundido simplesmente com pescado triturado. A CMS é um produto intermediário que serve como matéria-prima na obtenção do surimi, hambúrguer, produtos embutidos, empanados, etc.

Assim sendo, os resíduos representam um problema econômico para a empresa, em virtude de desperdícios de carnes boas, gastos com eliminação de resíduos e tratamento destes até um nível ambientalmente aceitável, ou mesmo um problema ambiental para a sociedade caso não sejam tratados.

Na industrialização do salmão, por exemplo, de 100Kg de salmão, 40Kg serão utilizados na produção de filé, enquanto 60Kg se transformam em subprodutos. Destes 60Kg, 36Kg formarão as aparas ou polpas, e 24Kg serão os resíduos descartados. Com base nestes dados, uma alternativa para o aproveitamento dos subprodutos consiste no desenvolvimento de novos produtos com maior valor comercial através da aplicação da tecnologia enzimática.

Algumas empresas estão produzindo medalhões comerciais de salmão. Estes se encontram no mercado e em sua composição, para dar estabilidade à massa estão sendo inseridos componentes como gomas, fosfatos, conservadores e estabilizantes. Ingredientes necessários, mas que normalmente descaracterizam o sabor do produto natural. A utilização de biocatalisadores naturais que possam produzir os mesmos efeitos destes ingredientes, mas que mantenham as características naturais dos produto é uma alternativa tanto de pesquisa quanto de geração de novos produtos para a indústria de alimentos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Materiais

O medalhão de salmão é um prato bastante apreciado pela culinária nacional e internacional. Trata-se de um aglomerado de ingredientes, sendo a carne do salmão, a matéria-prima principal. Para dar o formato de medalhão, ou círculo, são utilizados moldes ou são moldados manualmente.

Para o preparo dos medalhões foram utilizadas aparas residuais obtidas no *toilet* da filetagem industrial de Salmão (*Salmo salar*) doada pela FRESCATO Indústria de Alimentos do Rio de Janeiro. As aparas de salmão, ou seja, a polpa cedida para experimentação, possuía características bem inconsistentes, ou seja, aparas não homogêneas e não trituradas.

A enzima transglutaminase comercial (TGase) Activa® GS foi doada pela Empresa Ajinomoto Biolatina. e Com. Ltda.

Os condimentos (sal, cebola e alho desidratados) foram adquiridos em mercado popular do município de Seropédica - RJ.

Os medalhões foram preparados na planta 1 da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroindústria de Alimentos - RJ) e na Planta de Carnes do DTA – UFRRJ.

Para a moldagem dos medalhões foram preparadas formas circulares com 7,5cm de diâmetros e 2,5cm de altura.

#### 3.2. Métodos

##### 3.2.1. Testes preliminares para determinação dos ingredientes da formulação, tempo de reação enzimática e ação de vácuo

A Tabela 5 apresenta os ingredientes básicos utilizados no primeiro teste de aplicação da TGase para elaboração dos medalhões, que visou testar os efeitos dos ingredientes a serem utilizados durante a elaboração final do produto, seguindo-se as concentrações observadas na literatura. Foram moldados medalhões de 100g para cada tratamento e em seis processos diferentes: T1MS1 (com 0,5% de enzima, 1,8% de sal, 0,4% de polifosfato); T1MS2 (com 1,0% de enzima, 1,8% de sal, 0,4% de polifosfato); T1MS3 (sem enzima, 1,8% de sal e 0,4% de polifosfato); T1MS4 (com 0,4% de polifosfato); T1MS5 (com 1,8% de sal) e T1MS6 (sem condimentos).

**Tabela 5.** Formulações para avaliação da ação do sal, fosfato, tempo de ação da TGase e ação do vácuo.

Ingredientes	Formulações					
	T1MS1	T1MS2	T1MS3	T1MS4	T1MS5	T1MS6
Polpa de salmão (g)	100	100	100	100	100	100
TGase (%)	0,5	1,0	0	0	0	0
Sal (%)	1,8	1,8	1,8	0	1,8	0
Polifosfato (%)	0,4	0,4	0,4	0,4	0	0

A polpa utilizada foi descongelada lentamente sob refrigeração até atingir o ponto de manuseio. As matérias-primas foram pesadas, misturadas manualmente por cinco minutos e inseridas com a mão dentro dos moldes. O tempo de reação da TGase foi de 15 h a 4°C. Cada formulação foi dividida em duas partes, uma parte foi embalada a vácuo e a outra sem vácuo.

A Tabela 6 apresenta os ingredientes básicos utilizados no segundo teste de aplicação da TGase constando três diferentes tratamentos e com triplicata para cada processo, a saber: T2MS1 (com 0,5% de enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó); T2MS2 (com 1,0% de enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó); T2MS3 (sem enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó). Nesta segunda etapa, o sal foi diminuído devido a observações sensoriais feitas durante uma simples degustação por provadores, realizada nos medalhões obtidos no primeiro teste.

**Tabela 6.** Formulações com adição de condimentos, tempo de reação enzimática de 3h e sem vácuo.

Ingredientes	Formulações		
	T2MS1	T2MS2	T2MS3
Polpa de salmão (g)	100	100	100
TGase (%)	0,5	1,0	0,0
Sal (%)	1,5	1,5	1,5
Polifosfato (%)	0,4	0,4	0,4
Alho em pó (%)	1,0	1,0	1,0
Cebola em pó (%)	1,0	1,0	1,0

A polpa utilizada foi descongelada lentamente sob refrigeração até atingir o ponto de manuseio. As matérias-primas foram pesadas, misturadas manualmente por cinco minutos e inseridas com a mão dentro dos moldes. Esses produtos foram embalados sem vácuo e o tempo de reação da TGase foi de 3h a 4°C.

Nos produtos obtidos foram realizados testes de perdas de peso e retração durante o cozimento em chapa aquecida e “untada” com óleo de soja. Uma degustação simples e aleatória foi realizada com 8 estagiários não treinados, do Laboratório de Análise de Alimentos e Bebidas da UFRRJ, a fim de avaliar as melhores formulações e condições de processo para serem utilizadas em etapas posteriores de processamento.

### 3.2.2. Elaboração do medalhão de salmão: etapa final

Após os testes preliminares, foram definidas as melhores condições de processo para o preparo dos medalhões: tempo de reação de 15 h, sem vácuo na embalagem e com a mesma concentração de sal do segundo teste (1,5%), variando-se somente a concentração da enzima, como pode ser observado na Tabela 7.

**Tabela 7.** Formulações para elaboração dos medalhões de salmão.

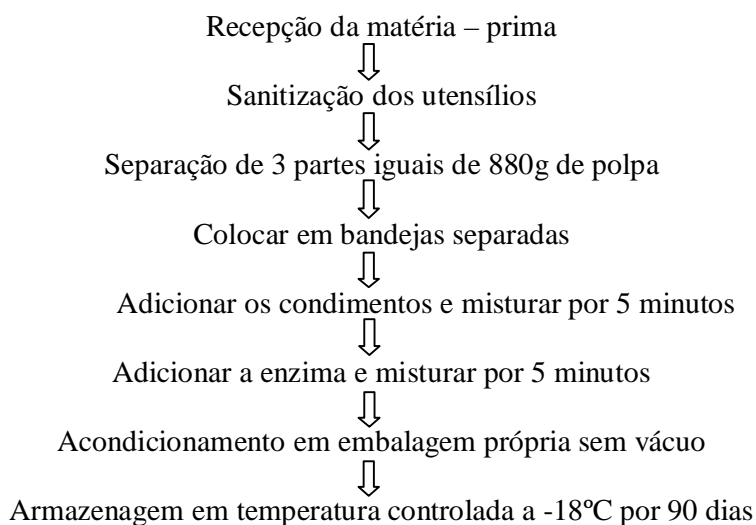
Ingredientes	Formulações		
	MS1	MS2	MS3
Polpa de salmão (g)	880	880	880
TGase (%)	0,5	1,0	0,0
Sal (%)	1,5	1,5	1,5
Polifosfato (%)	0,4	0,4	0,4
Alho em pó (%)	1,0	1,0	1,0
Cebola em pó (%)	1,0	1,0	1,0

A polpa do salmão foi descongelada a 5°C, pesada e adicionados os demais ingredientes. Misturou-se manualmente por 5 minutos, utilizando-se como suporte bandejas retangulares brancas.

As massas obtidas seguiram separadamente para o acondicionamento. Foram realizadas triplicatas do processo de produção dos medalhões. As misturas foram moldadas em formas redondas de PVC com 7,5cm diâmetro por 2,5 cm de altura e aplicado uma pressão de 4Kg (propiciar melhor acondicionamento da polpa na forma), por 15 horas, sob refrigeração a 4 °C.

Após este período, os medalhões foram retirados dos moldes e acondicionados em embalagens plásticas individuais. Em seguida, foram colocados em freezer, em temperatura de -18 °C por 90 dias. Após 15 dias de armazenamento os produtos foram submetidos às análises de composição centesimal e microbiológica e ao teste de aceitabilidade.

A produção dos medalhões seguiu o fluxograma demonstrado na Figura 5.



**Figura 5.** Fluxograma de elaboração dos medalhões

### 3.2.3. Perda de peso e medida do grau de retração no processo de fritura

Segundo a metodologia descrita por Uresti et al. (2004) com adaptações, quatro medalhões de salmão foram descongelados, pesados e cozidos em chapa de ferro por 6 min (3 min cada lado). Quatro amostras foram analisadas para cada tratamento. Em seguida, as amostras foram removidas, pesadas e a perda de peso foi calculado como:

$$P.P. = \frac{P_i - P_f}{P_i}$$

Onde: P.P = perda de peso (g/g); P<sub>i</sub> - peso inicial; P<sub>f</sub> - peso final.

A medida do grau de retração dos medalhões foi calculado com o auxílio de uma régua graduada, utilizando-se três amostras, através da mensuração antes e após o cozimento. Os valores médios de retração foram obtidos como:



$$G.R = \frac{R_i - R_f}{R_i}$$

Onde: G.R = grau de retração (encolhimento) (cm); Ri - grau de retração inicial; Rf – grau de retração final

#### 3.2.4. Determinação da Força de cisalhamento - FC

Esta etapa foi realizada no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense. Com auxílio do equipamento texturômetro de *Warner – Bratzler Meat Shear Model 3000* (Figura 6) foi analisada a força de cisalhamento necessária para o corte de amostras com diâmetros padronizados. Os medalhões foram analisados após cozimento em chapa, estando os mesmos em temperatura de refrigeração (8 °C), e com amostragem em triplicata. Os procedimentos utilizados para esta análise estão descritos no item 3.2.4.1 A e B.



Figura 6. *Warner – Bratzler Meat Shear Model 3000*

#### 3.2.4.1. Preparo das amostras para determinação da Força de cisalhamento - FC

##### A - Procedimentos

- Descongelou-se 3 medalhões de cada tratamento MS1, MS2 e MS3;
- Untou-se a chapa com óleo de soja e aqueceu-se bem;
- Colocou-se os medalhões em chapa quente introduzindo o termômetro (controle da temperatura interna dos medalhões até 73° C) e marcou-se três minutos;
- Virou-se os medalhões e marcou-se mais três minutos;
- Os medalhões foram retirados quando o tempo de três minutos foi alcançado, ou quando a temperatura interna estivesse em torno de 73°C;
- Foram retirados da chapa, acondicionados em papel alumínio, numerados e resfriados a 8°C.

##### B - Análise no aparelho texturômetro

- Retirou-se amostras cilíndricas de pontos diferentes de cada medalhão;
- De posse dessas pequenas amostras, realizou-se os cortes com a lâmina do aparelho o mais próximo possível de cada proximidade;
- A FC foi determinada em kgf dado pela leitura do aparelho;

Durante a análise no aparelho texturômetro, foi realizado o máximo possível de leituras para se ter uma boa amostragem resultando-se em dados estatísticos significativos.

### **3.2.5. Composição centesimal**

Na composição centesimal dos medalhões foram avaliados o teor de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas segundo a Instrução Normativa nº 20 de 1999 (Brasil, 1999).

#### **3.2.5.1. Determinação da Umidade por Secagem em Estufa**

A metodologia utilizada para determinação da umidade está descrita a seguir (Brasil, 1999):

##### **A – Metodologia**

- As cápsulas de fundo plano foram colocadas numa estufa aquecida a 120°C, durante duas horas.
- Foram resfriadas em dessecador e pesadas;
- Foi pesado rigorosamente para a cápsula, 3g de amostra de salmão e distribuídos sobre o fundo daquele recipiente;
- As cápsulas, que continham as amostras, foram colocadas na estufa aquecida a 120°C, durante duas horas.
- Foram resfriadas em dessecador e pesadas imediatamente até o peso constante.

##### **B – Cálculo:**

$$\% \text{ Umidade} = \frac{\text{perda de peso}}{\text{Peso de amostra}}$$

$$\% \text{ Sólidos totais} = 100 - \% \text{ água}$$

#### **3.2.5.2. Determinação de Cinzas**

A metodologia utilizada para determinação de cinzas foi conduzida conforme descrito abaixo (Brasil, 1999):

##### **A – Metodologia**

- Pesou-se de 5 a 10 g da amostra em uma cápsula, previamente aquecida em mufla a 550°C;
- Foram resfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e pesadas;
- Foram secas em chapa elétrica, e carbonizadas em temperatura baixa;
- Foram incineradas em múfla a 550°C, até eliminação completa do carvão (as cinzas devem ficar brancas ou ligeiramente acinzentadas);
- Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesadas (repetiu-se as operações de aquecimento e resfriamento até peso constante).

**B - Cálculo:**

$$\frac{100 \times N}{P}$$

N = nº de g de cinzas

P = nº de g da amostra

**3.2.5.3. Lipídios ou extrato etéreo com hidrólise ácida prévia**

A metodologia e os cálculos utilizados para determinação de lipídeos estão descritos nos itens A e B (Brasil, 1999).

**A – Metodologia: amostra seca**

- Pesou-se 10 g da amostra homogeneizada;
- Transferiu-se para um frasco Erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada;
- Adicionou-se 100 mL de ácido clorídrico 3 M;
- Os frascos de Erlenmeyer foram acoplados em condensador longo sob aquecimento;
- Foram mantidos por 1 hora em ebulição e esfriados;
- Filtrou-se as amostras utilizando duas folhas de papel de filtro;
- Os resíduos foram lavados com água até a neutralização completa do filtrado;
- Desprezou-se o filtrado;
- Depositou-se o papel de filtro com o resíduo sobre um vidro de relógio e colocou-se em estufa à 105°C para secagem;
- Foi feito um cartucho com os papéis, usando o externo para envolver o que continha a amostra (Transferir o cartucho para o aparelho extrator tipo Soxhlet);
- Acoplou-se o extrator ao balão de fundo chato, previamente tarado a 105°C;
- Adicionou-se éter de petróleo em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio;
- Acoplou-se em um refrigerador de bolas;
- Foi mantido sob aquecimento em chapa elétrica por 8 horas;
- Retirou-se o cartucho e destilou-se o éter;
- Os balões com o resíduo extraído foram para uma estufa a 105°C por uma hora;
- Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesar (Repetir as operações de aquecimento por 30 minutos na estufa e resfriamento até peso constante).

**B - Cálculo:**

$$\frac{100 \times N}{P}$$

N = nº de g de cinzas

P = nº de g da amostra

**3.2.5.4. Proteína – Método de Kjeldahl clássico**

A quantidade de proteína dos medalhões foi calculada através do método de Kjeldahl, conforme descrito a seguir (Brasil, 1999).

Pesou-se 0,25 g da amostra em papel de seda. Transferiu-se para o balão de Kjeldahl (papel+amostra). Adicionou-se 25 mL de ácido sulfúrico e cerca de 6 g da mistura catalítica. Levou-se ao aquecimento em chapa elétrica, na capela, até a solução se tornar azul-esverdeada e livre de material não digerido (pontos pretos). Aqueceu-se por mais uma hora. Deixou-se esfriar. Adicionou-se 10 gotas do indicador fenolftaleína e 1 g de zinco em pó

(para ajudar a clivagem das moléculas grandes de protídios). Ligou-se imediatamente o balão ao conjunto de destilação. Mergulhou-se a extremidade afilada do refrigerante em 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M, contido em frasco Erlenmeyer de 500 mL com 3 gotas do indicador vermelho de metila. Adicionou-se ao frasco que contém a amostra digerida, por meio de um funil com torneira, solução de hidróxido de sódio a 30% até garantir um ligeiro excesso de base. Aqueceu-se à ebulição e destilou-se até obter cerca de 250-300 mL do destilado. Titulou-se o excesso de ácido sulfúrico 0,05 M com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, usando vermelho de metila.

Ao final das determinações, o valor calórico foi calculado multiplicando por 9 o resultado de lípideo e por 4 os valores de proteína (Brasil, 1999).

### 3.2.6. Análise microbiológica

Realizou-se análises para pesquisa de *Escherichia coli*, *Salmonella sp* e *Staphilococos coagulase positiva* visando garantir que os medalhões não trariam danos a saúde dos provadores. A metodologia utilizada foi segundo a APHA, (1992).

Após os quinze dias de elaboração dos medalhões de salmão, as amostras de cada tratamento MS1, MS2 e MS3 foram separadas (por dia de produção), e coletados um medalhão de aproximadamente 100g de cada um dos tratamentos, totalizando 6 amostras para cada tratamento sendo separadas trituradas e pesadas assepticamente (100g para cada análise). As amostras foram transportadas para o laboratório em caixa de material isotérmico (isopor) contendo cubos de gelo e mantidas sob refrigeração até o momento das análises. Em nenhum caso, o tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início da análise microbiológica ultrapassou duas horas.

De cada amostra foram pesados, assepticamente, 25 gramas do produto e adicionados 225 mL de solução salina estéril (NaCl 0,85% p/v) com 0,1% (p/v) de Peptona (SSP), a fim de obter-se a diluição inicial ( $10^{-1}$ ), a qual foi homogeneizada em aparelho homogeneizador. Posteriormente, 1 mililitro desta diluição foi colocado num tubo contendo 9mL de Solução Salina Peptonada (SSP) 0,1%, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$  e tal procedimento foi repetido para obtenção das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ . Para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, de cada diluição ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) do alimento em estudo, foram tomadas três porções de 1mL cada e inoculadas, respectivamente, em três tubos contendo 10mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose contendo um tubo de Durham invertido, obtendo-se três séries de três tubos. Foi utilizado um tubo controle do meio de cultura e outro controle do meio de cultura e diluente, os quais foram incubados em estufa a 35 - 37° C, por 24 - 48 horas. Os subcultivos positivos foram semeados em tubos contendo 8mL de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB MERCK 5454) com tubo de Durham invertido, incubando-os a 35°C, durante 24 a 48 horas. A prova foi considerada positiva somente quando se verificava turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham, dentro de um período de incubação máximo de 48 horas. A determinação quantitativa foi realizada de acordo com a técnica do NMP, recomendada pela APHA (1992).

Uma alçada de cada cultura foi tomada dos tubos positivos de LST e transferida para tubos de Caldo *E. coli* (EC MERCK 10765), contendo tubos de Durham invertidos, e incubados a 46 °C, em banho-maria, para determinação de coliformes fecais. Após a incubação por 24 a 48 horas foi realizada a leitura, e os tubos que apresentavam turvação do meio e produção de gás foram considerados positivos para bactérias do grupo coliforme fecal. Para cada diluição o número de tubos foi anotado e quantificado através da tabela de NMP, determinando, assim, o NMP de bactérias coliformes fecais por grama de medalhão analisado (A quantificação só acontece em caso de observações positivas).

Os tubos positivos em Caldo EC foram semeados em placas contendo meio Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), segundo Levine (MERCK 1342) para pesquisa de *Escherichia coli*. As placas foram incubadas a 35 - 37°C, por 24 horas. A partir das colônias típicas e isoladas de *E. coli* crescidas no meio EMB, foram realizadas as provas bioquímicas de IMViC (indol, vermelho de metila/ Voges- Proskauer e citrato), (caso obtivesse um resultado positivo das análises) de acordo com a técnica descrita pela APHA (1992).

Para a quantificação de *Staphylococcus aureus* utilizou-se o método de contagem “Spread- plate” em Agar Baird Parker (BP MERCK 5406), em duplicata, depositando-se 0,1mL de cada diluição sobre a superfície do ágar e, com o auxílio de um bastão de vidro tipo “hockey” flambado, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio até a completa absorção. As placas foram incubadas a 35 - 37° C, por 24 a 48 horas. Foram selecionadas as placas contendo entre 20 e 200 colônias, selecionando as colônias típicas. A partir destas, foram selecionadas três colônias típicas de cada placa, que foram inoculadas em tubos contendo 1mL de Caldo de Infusão Cérebro Coração (BHI \_ MERCK 10493), os quais foram incubados a 35 - 37°C, por 24 horas. A partir do subcultivo crescido em BHI (quando apresentar crescimento), são realizadas as seguintes provas bioquímicas: coagulase, catalase, coloração de Gram e termonuclease, quando necessárias (APHA, 1992).

Para determinação de *Salmonella* foi empregada a técnica de pré-enriquecimento em Caldo Lactosado, com incubação a 37°C por 24 horas e enriquecimento seletivo nos caldos tetrationato-verde brilhante e Rappaport-Vassiliadis, incubados a 42°C por 24 horas. Para o isolamento de colônias, foi realizada a semeadura em superfície em Ágar Hektoen e Ágar XLD, com incubação a 37°C por 24 horas. As colônias com reações típicas de *Salmonella* spp. foram submetidas aos testes bioquímicos de TSI, LIA e uréia e aquelas que apresentavam comportamento bioquímico de salmonelas foram submetidas, então, à prova de soroaglutinação, empregando-se soros polivalentes somático e flagelar para confirmação final. Foram retirados 0,5mL do caldo de enriquecimento Rappaport – Vassiliadis para inoculação e cultivo em 15mL de Caldo BHI, durante um período de 6 horas a 37°C sob agitação. Após este período, realizou-se a termoextração de antígenos mantendo-se o cultivo em banho-maria a 100°C por 15 minutos. Após o esfriamento, os tubos foram estocados congelados (-20°C) até a reação do ELISA segundo a metodologia da APHA (1992).

### **3.2.7. Análise sensorial - teste afetivo de aceitabilidade**

O teste afetivo de aceitabilidade dos medalhões foi conduzido com a participação de 112 consumidores (HOUGH et al., 2006) (Anexo A), escolhidos aleatoriamente entre estudantes de Curso Técnico, de graduação e funcionários técnicos administrativos da UFRRJ. Durante o teste, os consumidores permaneceram sentados em cadeiras e mesas separadas contendo as amostras.

As amostras congeladas foram cozidas em chapa de ferro por 6 min e mantidas em caixas de isopor laminada até serem degustadas pelos provadores. As amostras foram devidamente numeradas. Os provadores de ambos os sexos e com idade variando entre 18 a 65 anos receberam uma ficha para completar alguns dados pessoais e de preferência, além de um documento informativo a respeito do projeto desenvolvido, bem como da sua concordância em participar dos testes (Anexo A). Cada provador, além de uma ficha (Anexo C), com atribuições variando de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo” para qual foi utilizada a escala hedônica de 9 pontos (MENDEZ et al., 1985), receberam um prato plástico codificados contendo pedaços retangulares de medalhões de salmão cozido.

### **3.2.8. Aspectos éticos da pesquisa**

É relevante lembrar que, atendendo ao que estabelece a Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996)

esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa – CEP da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e somente após a aprovação, a pesquisa de campo foi efetivamente realizada. Os indivíduos procederam a análise somente mediante a assinatura do termo de consentimento (Anexo A). Cabe destacar que foram levados em consideração os princípios éticos de respeito pela autonomia das pessoas, bem como a obrigação ética de aumentar ao máximo os benefícios de segurança alimentar sem ocasionar danos à saúde do consumidor, de forma que a integridade física, mental ou moral dos entrevistados não fosse comprometida.

### 3.2.9. Análise Estatística

Os resultados da perda de peso, grau de retração análise de textura instrumental (comparação com textura atribuída pelos provadores pelo método de correlação de Pearson) e teste afetivo de aceitabilidade foram submetidos à análise estatística em delineamento inteiramente ao acaso, submetendo-os à análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey, a nível de significância de 5%.

A fórmula do coeficiente de correlação do momento do produto Pearson,  $r$ , é:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

onde  $x$  e  $y$  são as médias de amostra MÉDIA(matriz1) e MÉDIA(matriz2).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Avaliação dos testes preliminares para determinação dos ingredientes da formulação, tempo de reação enzimática e ação de vácuo

Os resultados obtidos para o primeiro teste preliminar de elaboração do medalhão onde o período de reação enzimática foi de 15 horas nas amostras embaladas a vácuo e sem vácuo estão representados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Determinação da perda de peso (PP) e medidas do grau de retração (GR) dos produtos.

TRATAMENTOS	°GR (cm)		%PP		TEXTURA
	CV	SV	CV	SV	
T1MS1	0,5	0,5	36	35	Firme
T1MS2	0,5	0,5	35,08	30,32	Firme mas com suculência
T1MS3	0,5	1,0	31	38,32	Seco e quebradiço
T1MS4	1,0	1,0	28,11	28,3	Produto esfarelado
T1MS5	0,5	0,5	21,35	27,9	+ firme
T1MS6	1,0	1,0	42,65	36,82	Produto seco e esfarelado

CV= Com vácuo; SV= Sem vácuo; PP= Perda de peso; GR= Grau de retração; T1MS1 (com 0,5% de enzima, 1,8% de sal, 0,4% de polifosfato); T1MS2 (com 1,0% de enzima, 1,8% de sal, 0,4% de polifosfato); T1MS3 (sem enzima, 1,8% de sal e 0,4% de polifosfato); T1MS4 (com polifosfato); T1MS5 (com sal) e T1MS6 (sem condimentos).

Após observações visuais, os tratamentos T1MS1 e T1MS2 apresentaram maior aglutinação (firmeza), melhor textura e suculência, menor grau de retração e perda de peso, indicando o poder de ligação da TGase comercial e confirmando a ação do sal e do polifosfato. Segundo Huffman et al., (1981) e Coon et al., (1983) o sal tem efeito na textura e proporciona melhor liga em produtos reestruturados, aumentando sua aceitabilidade pelo consumidor. KÜTEMEYER et al. (2005) e KURAISHI et al. (1997) citam que o sal aumenta a atividade enzimática e a estabilidade térmica da TGase, além de melhorar a efetividade de ligações ("binding") de proteínas e aumentar a resistência do gel cru e cozido de surimi tendo efeito sinérgico positivo na atividade da TGase.

Observou-se também que o vácuo não influenciou na ação enzimática, resultados esses não concordantes com os obtidos por Carvalho e Grosso (2004), pois relata-se que o contato da enzima com o oxigênio deve ser evitado em virtude de diminuir sua capacidade de ação sobre proteínas (AJI TEST, 2008). O fato do processo estudado neste trabalho não parecer ser exigente em relação ao vácuo contribui na redução dos custos com a implantação de seladoras a vácuo no processo.

As formulações T1MS3 e T1MS6 tiveram maiores perdas de peso e ambos apresentaram textura seca e produto esfarelado.

O tratamento T1MS6 apresentou menor perda de peso, mas o produto apresentou-se seco e quebradiço demonstrando a importância da ação da TGase, do sal e do fosfato.

De acordo com Dimitrakopoulou (2005) as proteínas musculares solubilizadas pelo sal atuam como substrato para as reações "crosslink" proporcionadas pela TGase, o que melhora as propriedades mecânicas da pasta de peixe.

O grau de retração foi baixo em todas as formulações, no entanto com retração maior em T1MS4 e T1MS6.

O fosfato atua estabilizando as emulsões e aumentando a capacidade de reter água das proteínas, aumentando a suculência dos produtos, (KRIGSMAN, 1985). O fosfato previne o desenvolvimento de reações oxidativas que levam a rancidez, e podem ainda ter um efeito antimicrobiano (KULSHRESTHA e RHEE, 1996). Sua ação, em conjunto com o sal proporciona muitos benefícios, incluindo maior uniformidade nos produtos, com melhoria na cor, textura e manutenção de suas qualidades. Perdas durante a cocção são minimizadas, com retenção de nutrientes e melhoria nas qualidades sensoriais (KRIGSMAN, 1985). Em baixas concentrações de sal o uso de fosfato em produtos alcança uma boa ligação com a água (KNIFE et al., 1985) e colabora para o aumento de propriedades de ligação (“binding”) entre proteínas (NIELSEN et al., 1995).

Com base nos resultados obtidos verificou-se que a adição da TGase comercial (0,5 e 1,0%), 1,8% de sal e 0,4% de polifosfato conferiram uma boa estabilidade ao produto, com menores perdas de peso. Observou-se também que o vácuo não influenciou no produto final.

No entanto, em decorrência da informação obtida através de provadores que realizaram uma simples degustação dos medalhões obtidos na primeira etapa preliminar foi realizada a modificação na quantidade de sal para elaboração dos medalhões na segunda etapa de testes preliminares, bem como na etapa final de elaboração dos medalhões (redução de 1,8 para 1,5% de sal), pois os mesmos acharam os medalhões salgados.

Na segunda etapa de elaboração dos medalhões (2º teste preliminar), avaliou-se o tempo de 3 h de reação da enzima e 3 diferentes tratamentos, pois se buscou diferenciar e criar melhores opções de processo para a etapa final de elaboração dos medalhões de salmão. Acrescentou-se nessas formulações a condimentação dos produtos com o objetivo de melhorar a aceitabilidade pelos consumidores, optando-se pela adição de alho e cebola em pó.

Visualmente, não se observou grandes diferenças quanto à cor do produto, mas o grau de firmeza observado no primeiro teste preliminar também foi evidenciado nesta etapa, sendo mais intenso na formulação T2MS2 com 1% de enzima .

Os resultados obtidos quanto a perda de peso e grau de retração (Tabela 9) mostraram que não existe diferença significativa entre os experimentos com a aplicação da enzima e o controle. No entanto, na Figura 7 pode-se observar a ação da TGase sobre a reestruturação das aparas de salmão e verificar uma melhor reestruturação com o uso de 1% de TGase.

**Tabela 9.** Determinação da perda de peso e grau de retração dos medalhões após processo de fritura.

<b>Aplicações</b>	<b>Perdas de Peso</b>	<b>Grau de Retração</b>
<b>T2MS<sub>1</sub></b>	22,04 ± 1,90 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>T2MS<sub>2</sub></b>	18,81 ± 2,77 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>T2MS<sub>3</sub></b>	22,80 ± 3,20 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,00 <sup>a</sup>

Os resultados são a média de três repetições; T2MS1 (com 0,5% de enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó); T2MS2 (com 1,0% de enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó); T2MS3 (sem enzima, 1,5% de sal, 0,4% de polifosfato, 1,0% de alho em pó e 1,0% de cebola em pó).





**Figura 7.** Efeito da TGase em produto reestruturado de aparas de salmão

Com o teste simples de aceitabilidade dos produtos (Tabelas 10, 11 e 12) com 8 provadores ficou comprovada a capacidade de melhoria na estrutura física da carne de salmão, porém, sem alterar as características do produto “in natura”. Esta ação a nível de proteína, atribuída ao uso da enzima, atua na melhoria da textura, firmeza e palatabilidade (MOTOKI; SEGURO, 1998 e ZHU et al 1995).

Em relação à aparência, o produto T2MS2 foi o mais bem aceito com (50%). Quanto ao sabor dos produtos T2MS2 e T2MS3, 62,5% dos provadores disseram ter gostado muito demonstrando que a enzima não modifica o sabor natural do produto. Em relação ao aroma, 75% dos provadores disseram ter gostado muito do produto T2MS1, 50% gostaram muitíssimo do produto T2MS2 e 62,5% gostaram muito de T2MS3. A textura foi aprovada por 62,5% para o produto T2MS2 que gostaram muitíssimo contra 37,5% que gostaram muito do T2MS1 e T2MS3.

**Tabela 10.** Teste de aceitabilidade para a formulação T2MS1.

*ESCALA	MS1 (%)			
	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA
9 – gostei muitíssimo	0	12,5	25	25
8 – gostei muito	37,5	75	37,5	37,5
7 – gostei moderadamente	50	0	25	25
6 – gostei ligeiramente	12,5	0	0	0
5 – nem gostei/nem desgostei	0	12,5	0	0
3 – desgostei moderadamente	0	0	12,5	12,5
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

\*Valores 0 para todos os atributos não expressos na tabela.

**Tabela 11.** Teste de aceitabilidade para a formulação T2MS2.

MS2 (%)				
*ESCALA	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA
9 – gostei muitíssimo	37,5	50	62,5	62,5
8 – gostei muito	50	37,5	37,5	37,5
3 – desgostei moderadamente	12,5	12,5	0	0
TOTAL	100	100	100	100

\*Valores 0 para todos os atributos não expressos na tabela.

**Tabela 12.** Teste de aceitabilidade para a formulação T2MS3.

MS3 (%)				
*ESCALA	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA
9 – gostei muitíssimo	12,5	12,5	12,5	37,5
8 – gostei muito	37,5	62,5	62,5	37,5
4 - desgostei ligeiramente	0	0	12,5	12,5
3 – desgostei moderadamente	50	25	12,5	12,5
TOTAL	100	100	100	100

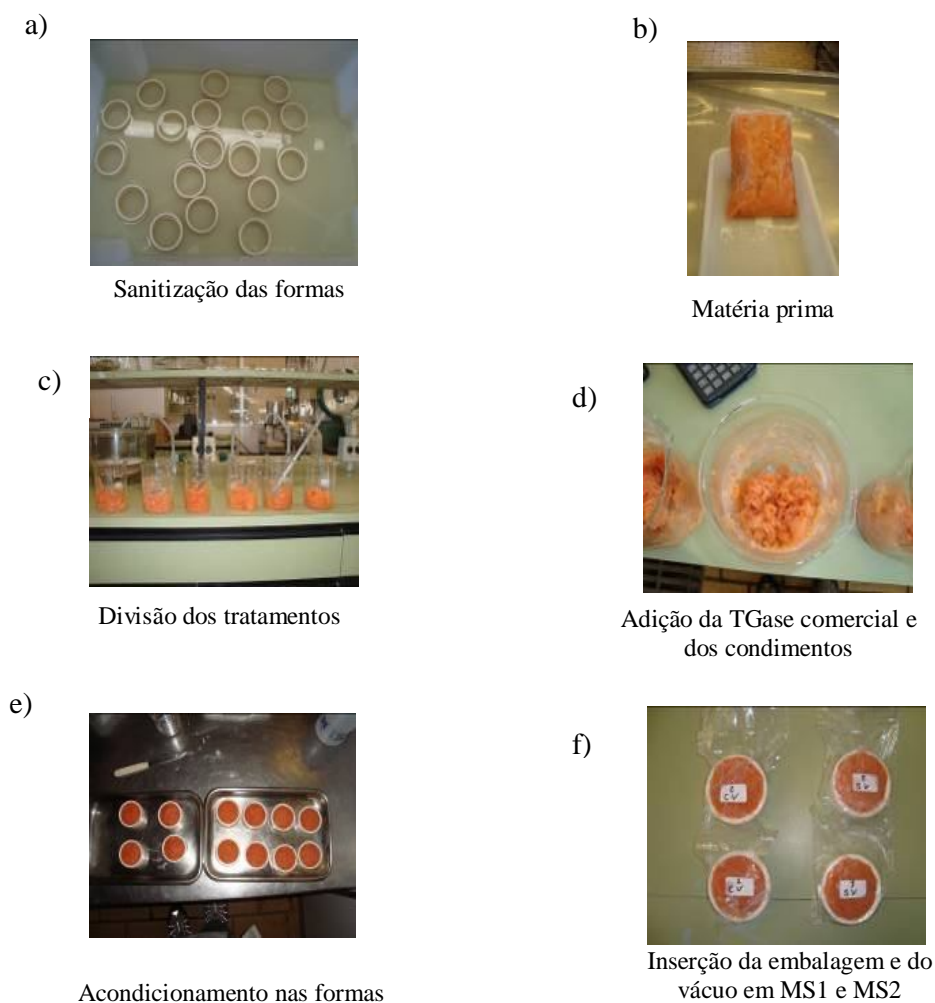
\*Valores 0 para todos os atributos não expressos na tabela.

Os testes utilizando 15 h, ou “*over night*” e 3 h de reação enzimática foram guiados por conclusões relatadas na literatura (BEIRÃO, 1999; MOTOKI e SEGURO, 1998; SÜHNEL 2007), assim como a temperatura de atuação (4°C), que seguiu normas de especificações do fabricante (AJINOMOTO), que indica uma ampla faixa de atuação da TGase (0 a 40°C). No caso da temperatura de atuação utilizada nos testes, tentou-se usar uma que não prejudicasse a integridade da matéria prima, já que, temperaturas mais altas de atuação favorecem o aumento da carga microbiana, o que pode prejudicar o processo sendo um ponto crítico de controle durante a fabricação de alimentos de origem animal.

Comparando-se o tempo de reação enzimática, não foram observadas grandes diferenças, porém, observou-se que com 15 horas os efeitos foram melhores, principalmente, em MS1 e MS2 onde as características sensoriais como firmeza, textura e suculência ficaram mais evidentes (informações percebidas pelo operador e demonstradas na tabela 10).

Estes resultados preliminares nortearam o processo de elaboração final dos medalhões no qual o tempo de reação de 15 h foi utilizado. Esses resultados estão de acordo com MOTOKI e KUMAZAWA (2000) que citam que a temperatura ótima de atuação da TGase é de 50°C, porém por períodos superiores a 12 h, a enzima consegue atuar em temperaturas abaixo de 10°C.

Etapas dos testes preliminares que serviram como base para determinação das condições de processo adequadas de elaboração final dos medalhões podem ser observadas na Figura 8.



**Figura 8.** Fotos (a) sanitização das formas, (b) recepção da matéria - prima, (c) divisão dos tratamentos em bancada, (d) Adição da TGase comercial e dos condimentos, (e) acondicionamento nas formas, (f) inserção do vácuo nas embalagens.

## 4.2. Avaliação da elaboração do medalhão de salmão na etapa final

### 4.2.1. Perda de peso (PP), grau de retração (GR) e força de cisalhamento (FC) dos medalhões

Com base nos resultados obtidos nos testes preliminares foi conduzido o processamento final de elaboração de medalhões de salmão. Assim como nos testes preliminares, não foram observadas mudanças quanto a cor dos medalhões, mantendo-se com as mesmas características do produto padrão. Segundo MOTOKI e SEGURO (1998), a utilização da TGase proporciona um sinergismo entre os condimentos, principalmente a base de cloreto de sódio e polifosfatos, garantindo as características naturais do produto.

Os resultados obtidos nos testes durante o cozimento dos produtos em chapa de ferro estão descritos na Tabela 13.

**Tabela 13.** Media das PP, GR e FC dos Medalhões de Salmão fritos em chapa de ferro.

Tratamento	PP (%)	GR (cm)	FC (kgf)
MS1	21,23 <sup>a</sup> ± 3,14	0,50 <sup>a</sup> ± 0,00	0,62 <sup>a</sup> ± 0,45
MS2	18,04 <sup>a</sup> ± 2,62	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,62 <sup>a</sup> ± 0,41
MS3	22,72 <sup>a</sup> ± 1,93	0,50 <sup>a</sup> ± 0,00	0,57 <sup>a</sup> ± 0,18

Os resultados são medias de três determinações. Letras iguais entre linhas indicam que os tratamentos não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

(PP) perda de peso, (GR) grau de retração e (FC) força de cisalhamento.

A aplicação da TGase reduziu a perda de peso, que foi menor no produto com maior concentração de enzima, MS2 (18,04%), bem como o grau de retração (sem retração) para este mesmo tratamento, porém, esta diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ), corroborando com resultados encontrados por SÜHNEL (2007).

A enzima TGase tem por princípio acelerar a polimerização de proteínas como a miosina, principal proteína da carne, e outras proteínas presentes em alimentos de origem animal, levando a um aumento na capacidade de formação e estabilidade do gel (MOTOKI e SEGURO, 1998; MACEDO, 2005; DONDERO et al., 2006). Isto garante maior capacidade de retenção de água, conseqüentemente em uma textura mais firme, suculenta e com melhor sabor da carne processada (BURSEY, 1996; BEIRÃO, 1986).

A reestruturação das aparas de salmão pode ser explicada pelas modificações das características protéicas ocorridas nos alimentos sob ação da TGase segundo MOTOKI e SEGURO (1998), que relataram que a TGase modifica as proteínas por meio de incorporação de aminas, ligações cruzadas e desaminação. Essas reações segundo NIELSEN et al, (1995) causam alterações nas propriedades funcionais de proteínas vegetais e animais, possibilitando a formação de produtos com melhores propriedades reológicas e sensoriais.

A força de cisalhamento aumentou para os tratamentos contendo enzima 0,62 kgf (MS1 e MS2), em relação ao tratamento controle, mas sem diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Os resultados mostraram que, o aumento na concentração da enzima proporcionou pouca resistência à força de corte (cisalhamento), mesmo na concentração de 1% da enzima, enquanto a maciez foi quase igual à observada no padrão, corroborando resultados encontrados por BEIRÃO (1986) e TSENG et al. (2000). A resposta de um material à penetração pode ser afetada pela densidade e uniformidade da matriz, já que somente uma região da seção transversal é submetida à penetração, e a resistência a esta força, mede o grau de compactação ou densidade, chamado firmeza. A variação na densidade, qualquer defeito ou não homogeneidade da matriz, como bolsas de ar ou ingredientes adicionados, podem alterar à força de penetração (LEE e CHUNG, 1989). As aparas de salmão utilizadas nesse experimento possuíam características bem inconsistentes, ou seja, aparas não homogêneas e não trituradas, o que poderia afetar o cisalhamento, entretanto isso não ocorreu, provavelmente pelas características musculares do pescado, ou pela ação da TGase.

Com os resultados da força de cisalhamento pode-se considerar que os medalhões ficaram extremamente macios, pois segundo BICKERSTAFFE et al. (1997), a carne é classificada como macia, quando a FC atinge valores de até 8 kgf; é considerada aceitável quando esses valores estão entre 8 kgf e 11 kgf; e passa a ser considerada dura com valores acima de 11 kgf.

#### 4.2.2. Composição centesimal dos medalhões

A composição centesimal dos medalhões (Tabela 14) quanto ao teor protéico e de lipídeos, pode ser comparada a composição centesimal do músculo de salmão, pois esses medalhões foram elaborados somente com polpa de salmão e condimentos, não havendo adição de qualquer outro tipo de gordura e proteína em sua composição.

**Tabela 14.** Teores médios da composição centesimal e valor calórico de medalhões elaborados com polpa de salmão.

<b>Tratamentos</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Cinzas (%)</b>	<b>Lipídeos (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Valor calórico (Kcal)</b>
<b>MS1</b>	73,60 <sup>b</sup> ± 0,23	3,32 <sup>ab</sup> ± 0,06	3,43 <sup>b</sup> ± 0,09	18,75 <sup>a</sup> ± 0,20	105,97
<b>MS2</b>	71,96 <sup>c</sup> ± 0,32	3,45 <sup>a</sup> ± 0,04	3,54 <sup>a</sup> ± 0,05	18,80 <sup>a</sup> ± 0,21	107,06
<b>MS3</b>	74,22 <sup>a</sup> ± 0,60	3,11 <sup>b</sup> ± 0,04	3,16 <sup>c</sup> ± 0,04	17,89 <sup>b</sup> ± 0,14	100,00

Os resultados são médias de três determinações. Letras diferentes entre linhas indicam diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ). Os dados para obtenção dos resultados apresentados na tabela estão nos Anexos B, C D e a análise estatística nos anexos E, F, G, H, I e J.

De um modo geral, para o salmão os valores de composição centesimal variam conforme a espécie (CHEFTEL, 1988 e CHEFTEL et al., 1989; OGAWA; MAIA, 1999; BEIRÃO et al., 2002). Para a espécie *Salmo salar* do atlântico os teores mais encontrados em 100g de carne são: umidade (70,00g), cinzas (1,05g) e lipídeos (10,85g) (USDA, 2001).

Observou-se que, o teor de umidade foi diminuindo com o aumento da concentração da TGase adicionada aos medalhões, com diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Essa redução pode estar associada pela utilização de todas as aminas primárias pela enzima, e a água presente no meio participa da reação, receptora acil, com os resíduos sendo deaminados (PAYNE, 2000b).

Observou-se que o teor de cinzas aumentaram em relação ao padrão MS3 (3,11), porém com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente entre o MS1 (3,32) e MS2 (3,45). Esse aumento pode ser explicado levando em consideração a composição da TGase (Activa<sup>®</sup> GS), que tem como base o cloreto de sódio, gelatina, estabilizante de emulsão fosfato trissódico (anidrido), esses aditivos podem ter contribuído para o aumento do teor de cinzas.

Os resultados obtidos para o teor de lipídeos demonstraram diferenças significativas com ( $p < 0,05$ ) entre si. Esses valores variam em função do teor de umidade, quanto maior a umidade menor tende a ser o teor de lipídeos (OGAWA; MAIA, 1999). Os lipídeos são fonte energética, controladoras do metabolismo, são isolantes e protetores de danos mecânicos externos. Durante o processo de industrialização, essa constituição lipídica também pode ser afetada (OGAWA; MAIA, 1999; BEIRÃO, 2002).

Quanto ao teor protéico, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com ( $p > 0,05$ ) MS1 (18,75) e MS2 (18,80) em relação ao padrão MS3 (17,89), sendo observado um pequeno aumento no conteúdo protéico à medida que se aumentava a concentração da TGase, comprovando a teoria de DONDERO et al., (2006) em relação ao valor agregado pela enzima em alimentos protéicos. Esses valores de proteínas podem ser influenciados por fatores físicos como a lixiviação, principalmente, em relação às proteínas solúveis sarcoplasmáticas, encontradas em pescados como a Cavalinha (32%), Barracuda (31%), Bacalhau (21%), Arraia (26%), Lula (12 a 20%) e Salmão *Salmo salar* (10%) mostrando que há uma grande diferença dependendo da espécie.

O valor calórico foi superior nos produtos MS1 e MS2, o que pode ser explicado pelo fato desses produtos terem maior teor protéico e lipídico. Entretanto o valor calórico dos medalhões foi inferior aos teores determinados para a carne de salmão que foi de 183 kcal segunda a USDA (2001).

#### **4.2.3. Avaliação microbiológica dos medalhões**

Avaliando os resultados obtidos para a contagem microbiana nos medalhões elaborados (Tabela 15), pode-se observar que os mesmos atendem a RDC nº. 12 de 2001 – ANVISA.

**Tabela 15.** Análise Microbiológica dos medalhões de salmão (MS1, MS2 e MS3).

<b>Microorganismos</b>	<b>Contagem</b>	<b>Valor máximo</b>
<i>E. coli</i>	Ausência / 25g	5 x 10 <sup>3</sup> ufc/g
Estafilococos coagulase positiva	Ausência / 25g	5 x 10 <sup>3</sup> ufc/g
Salmonella SP	Ausência / 25g	Ausência / 25g

Média das contagens, de microrganismos em amostra representativa de medalhão de salmão para os três tratamentos MS3, MS1 e MS2 de acordo com especificações da **RDC 12/01 - ANVISA - MS**.

Os custos relacionados a problemas alimentares provocados por *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, entre outros, estão entre 6,5 e 34,9 bilhões de dólares, apenas nos Estados Unidos (PADHYE e DOYLE, 1992). Em países subdesenvolvidos, esses números chegam a patamares altíssimos devidos as condições sanitárias em que os alimentos são preparados.

Carnes *in natura* e produtos derivados, mesmo conservados pela aplicação de calor, cozimento, e depois mantidos em refrigeração, podem apresentar microrganismos patogênicos. Muitas vezes a contaminação ocorre por manuseio após o cozimento, em etapas anteriores a embalagem (MING et al, 1997). Os resultados negativos para *E. coli*, *Salmonella* sp e *Estafilococos coagulase positiva* (Tabela 15), indicam que as condições de ambiente e de manipulação estiveram, em todas as etapas de produção dentro dos padrões de qualidade exigidos.

Para redução da carga microbiana dos alimentos, foi essencial a utilização de uma matéria-prima de boa qualidade e a aplicação das boas práticas de fabricação. Em produtos industrializados, os processos de conservação têm papel importante, baseando-se na destruição total ou parcial dos microrganismos capazes de alterar o alimento, ou na modificação e eliminação de um ou mais fatores (intrínseco ou extrínseco), que são essenciais para a sua multiplicação, de modo que o alimento não se torne propício ao desenvolvimento microbiano (NATRAJAN e SHELDON, 2000).

#### 4.2.4. Grau de aceitabilidade dos medalhões

Nos quesitos aparência global, aroma, sabor e textura (Tabela 16 e Anexos M, N, O e P) o medalhão MS2 foi o que recebeu melhor aceitação em comparação com o controle sem enzima (MS3), com médias de aceitação de 7,8, 7,6, 8,11 e 8,1 respectivamente, dos provadores, que afirmaram ter gostado muitíssimo do produto.

**Tabela 16.** Médias atribuídas pelos provadores aos medalhões de Salmão.

<b>Produtos</b>	<b>Aparência</b>	<b>Aroma</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>
MS1	7,6 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>	7,8 <sup>b</sup>	7,6 <sup>b</sup>
MS2	7,8 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>	8,1 <sup>a</sup>	8,1 <sup>a</sup>
MS3	7,4 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>	7,3 <sup>b</sup>	7,2 <sup>c</sup>

Letras diferentes entre linhas indicam que os tratamentos são diferentes significativamente entre si (p < 0,05). Os dados para obtenção dos resultados apresentados na tabela estão nos Anexos M, N, O e P.

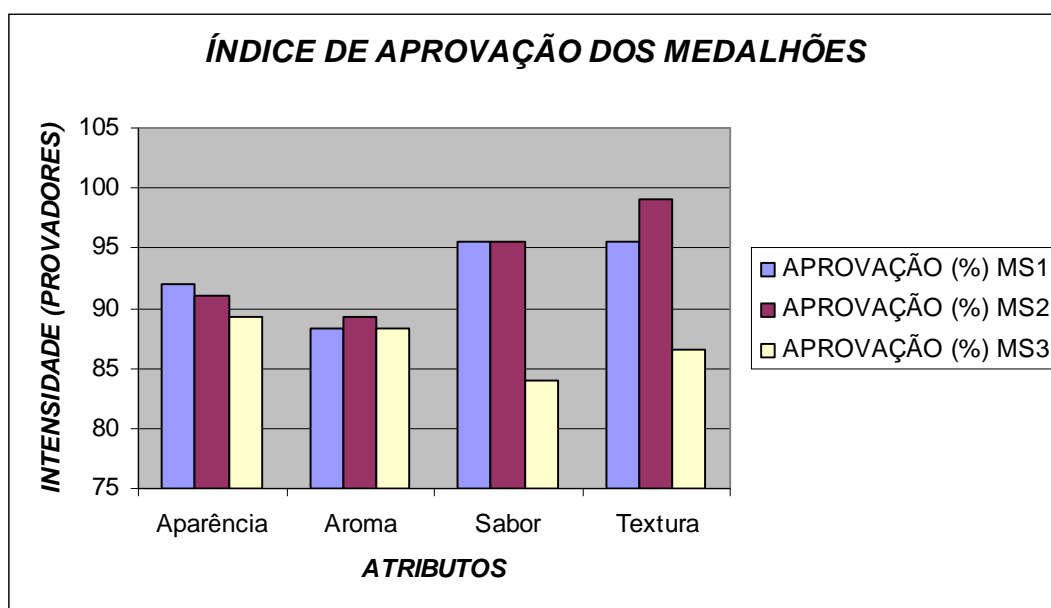
Não foram observadas diferenças significativas (p > 0,05) entre os tratamentos para os atributos de aparência e aroma, comprovando as características de ação da enzima sem modificar a estrutura natural do alimento (BEIRÃO, 1986 e TSENG *et al.*, 2000).

Outros autores testaram diferentes concentrações da TGase e observaram efeitos benéficos da enzima, sobretudo na aceitabilidade, para produtos carnes. SÜHNEL, (2007) analisou sensorialmente reestruturados de tilápia (*Oreochromis sp*) e demonstrou que a enzima TGase tem efeito positivo no processamento de produtos reestruturados de peixe, porém, sem obter diferenças significativas entre as concentrações utilizadas 0,5 e 0,8%.

Em relação ao sabor e textura houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sobretudo para o tratamento MS2 (1,0%), que obteve maior pontuação, em relação ao padrão sem enzima, provavelmente pela maior suculência e palatabilidade. A enzima atua dando um forte poder de ligação que permanece mesmo quando os alimentos são congelados, ou cozidos, pode ser usada em todos os tipos de carnes e não compromete o sabor e aroma originais dos alimentos (BEIRÃO 1986).

As médias da FC e da textura atribuído pelos provadores apresentaram correlação positiva ( $R = 0,87$ ) (Anexo O). O aumento da concentração da enzima propiciou melhores atributos de maciez para MS2 (1,0%) em comparação com o controle MS3.

Os resultados de aprovação dos medalhões adicionados de TGase estão descritos na Figura 9. Segundo TEIXEIRA (1987) para que um produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de no mínimo 70%.



**Figura 9.** Índice de aprovação dos medalhões quanto a aparência, aroma, sabor e textura.

Todos os tratamentos obtiveram aceitabilidade acima de 70%, entretanto o tratamento MS2 obteve aceitabilidade acima de 90% nos quesitos de aparência, sabor e textura, demonstrando que o uso da enzima não interferiu na palatabilidade dos medalhões. Dos 112 entrevistados 97,3% afirmaram que comprariam o produto.

## 5. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, as seguintes conclusões puderam ser obtidas:

- A aplicação da TGase reduziu a perda de peso, que foi menor no produto com maior concentração MS2 (1%);
- A força de cisalhamento aumentou à medida que a concentração enzimática aumentava, mas sem interferir na palatabilidade e características dos produtos;
- Em relação a composição centesimal observou-se aumento para a umidade, lipídeos, cinzas, proteína e valor calórico em relação ao produto controle;
- Os cuidados higiênicos-sanitários aplicados na elaboração dos medalhões contribuíram significativamente para a qualidade microbiológica dos produtos finais;
- A aplicação da enzima não alterou os atributos de aparência e aroma;
- Nos quesitos aparência global, aroma, sabor e textura, o medalhão MS2 com 1% de TGase recebeu melhor aceitação em comparação com o controle MS3 (sem enzima);
- Observou-se uma correlação positiva entre a força de cisalhamento e o atributo textura, pois o aumento na concentração da enzima proporcionou melhor suculência e maciez aos produtos;
- Os produtos elaborados com TGase obtiveram ótima aceitabilidade, e seriam comprados por 97,3% dos provadores;
- A aplicação da TGase na elaboração de medalhões a partir de aparas de salmão apresentou grande potencial, formando um produto viável tecnicamente.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJI TEST. Métodos de Análises Desenvolvidas pela Ajinomoto. In: **Ajinomoto corporation Folder**, 2008. 1 p.

APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 1992.

ARAÚJO, F. F. Inoculação de Eementes com *Bacillus subtilis*, Formulado com Farinha de Ostras e Desenvolvimento de Milho, Soja e Algodão. **Ciência agrotecnica.**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, mar./abr., 2008.

BARRETO, P. L. M; BEIRÃO, L. H. Influência do amido e carragena nas propriedades texturiais de surimi de tilápia (*Oreochomis sp.*). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19 (2), maio/ago. 1999.

BEIRÃO, L. H, TEIXEIRA, E., MEINERT, E.M., SANTO, M.L.P.E. **Processamento e Industrialização de moluscos**. Disponível em <<http://www.acaq.org.br/arquivos/pr>> acesso em 22/06/2008.

BEIRÃO, L. H. **Proteolytic digestions of fish flesh during processing whih particular reference to minced fish**. PH D theses – Department of Bioscience and Biotechnology, Food Science Department, University of Strachclyde - Aberdeen, Scotland. 1986.

BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L.; Enzimas em biotecnologia: aplicação e mercado. Rio de Janeiro: **Interciência: UFRJ: CAPES:FAPERJ:FCT** (Portugal), 2008.

BURSEY, R. G. Transglutaminase – A Crosslinking Enzyme for Meat and Poultry. In: **Ajinomoto USA, Inc**, 1996.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos**. BRASIL, 1996. (RESOLUÇÃO Nº 196).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Físico – Químicos para controle de produtos Cárneos e seus ingredientes – Sal e Salmoura**. BRASIL, 1999. (Instituição Normativa Nº 20).

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento - Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada**. – BRASIL, 2000, (Instrução Normativa Nº 4)

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Saúde Brasil 2007: uma análise da situação de saúde**. Brasília, 2007.

BICKERSTAFFE, R.; LE-COUTER, C. E.; MORTON, J. D. Consistency of tenderness in New Zealand retail meat. In: **Internacional Congress of Meat Science and Technology**, 43., 1997, Auckland. **Anais Auckland: ICOMST**, 1997

BYKOWSKI, P.J. Preparación de la pesca para su conservación y comercialización. 103 - 124. In: SIKORKI, E. (Org.). **Tecnología de los productos del mar. Recursos, composición nutritiva y conservación**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1990. p. 315-35

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Quím. Nova**, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CARVALHO R. A., GROSSO C. R. F. Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SÃO PAULO. Campinas, SP. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, p. 495-501, 2006.

CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, C. H. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. Zaragoza: Editora Acribia, 1988, p. 333.

CHEFTEL, J. L., CUQ, J. L., LORIENT, D. **Proteínas alimentarias: Bioquímica. Propriedades funcionales. Valor Nutritivo. Modificaciones químicas**. Zaragoza: Acribia, 1989.

COSTA, M. **Aminas Aromáticas Heterocíclicas em sardinha e salmão grelhados: Influência do processamento culinário**. 101 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade na Especialidade: Água e Alimentos – Universidade do Porto, Portugal. 2008.

DATE, M.; YOKOYAMA, K.; UMEZAWA, Y.; MATSUI, H.; KIKUCHI, Y. High level expression of *Streptomyces mobaraensis* transglutaminase in *Corynebacterium glutamicum* using a chimeric pro-region from *Streptomyces cinnamoneus* transglutaminase, **J. Biotechnol.**, v. 110, p. 219-224, 2004.

Dimitrakopoulou, M. A.; Ambrosiadis, J. A.; Zetou, F. K.; Bloukas, J. G. **Effect of salt and transglutaminase (TG) level and processing conditions on quality characteristics of phosphate - free, cooked, restructured pork shoulder**. **Meat Sci.** 2005, 70, 743-749.

DONDERO, M.; FIGUEROA, V.; MORALES, X.; CUROTTO, E. Transglutaminase effects on gelation capacity of themally induced beef protein gels. **Food Chemistry**, V. 99, Issue 3, 2006, P. 546-554.

FAO. Departamento de pesca de la FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura: Examen mundial de la pesca y la acuicultura: El estados de los recursos pesqueros: tendencias de la producción, aprovechamiento y comercio**. Roma p. 3-67. 2004.

FAO. Food Agriculture Organization of the United Nations. *Aquaculture production Statistics*. 1988 - 1997. **Fishery Information, Data and Statistics Unit**. FAO Fisheries Circular, nº 815, Revision 11, Rome, 1999, 203 p.

FRANCO, M. V. G.; RESENDE, M. A.; HAMDAN, J. S.; GONTIJO, M.. Isolamento e identificação de actinomiceto de paciente com lesão intra-ocular. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 62 (4): 201-202, 1987.

DAVA, C. T.; NEVES, M. C. P. População de actinomicetos como componentes da comunidade bacteriana do solo. Disponível em: < WWW.cnpad.embrapa.br > acesso em fevereiro de 2010.

GERRARD, J. A. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. **Food Science & Technology**, v. 13, p. 391-399, 2002. 36

HAMM, R. **Heating of muscle systems**. In: \_\_\_\_\_, Response to physical and chemical treatment. Meison: University of Wisconsin Press, 1966.

HOUGH, G.; WAKELING, I; MUCCI, A.; CHAMBERS, E. IV; GALLARDO, I.M.; ALVES, R.L. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. **Food Quality and Preference**. n.17, p. 522–526, 2006.

HUFFMAN, D. L.; LY, A. M.; CORDRAY, J. C. Effect of salt concentration on quality of restructured pork chops. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1563-1565, 1981.

ICEPA/SC. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina 2003 – 2004: desempenho da pesca e aquíicultura**, 2004.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids**. Chapter 5. Washington DC: National Academic Press, 2002.

JOSEPH, D.; LANIER, T. C.; HAMANN, D. D. Temperature and pH affect transglutaminase catalyzed “setting” of crude fish actomyosin. **Journal of Food Science**. v. 59, 1994.

JORGE, S. **Desenvolvimento de macarrão à base de pescado lavado, desodorizado (surimi), destinado à alimentação institucional e avaliação da sua qualidade protéica**: 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis.

KIM, S. H.; CARPENTER, J. A.; LANIER, T. C.; WICKER, L. Polymerization of beef actomyosin induced by transglutaminase reaction. **Journal of Food Science**. v. 58, 1993.

KIRK, O.; BORCHERT T. V.; FUGSLANG, C.C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p.345-351, 2002.

KNIFE, C.L.; OLSON, D.G.; RUST, R. E. Effects of selected inorganic phosphates, phosphate levels and reduced sodium chloride levels on protein solubility, stability and pH of meat emulsions. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1010-1013, 1985.

KRIGSMAN, S. A. Phosphates in food processing. **Food Technology in Australia**. v. 37, n. 9, 1985.

KULSHRESTHA, S. A.; RHEE, K. S. Precooked reduced-fat beef patties chemical and sensory quality as affected by sodium ascorbate, lactate and phosphate. **Journal of Food Science**. v. 61, n. 5, 1996.

KÜTEMAYER, C.; FROECK, M.; WERLEIN, H.-D.; WATKINSON, B. M. The influence of salts and temperature on enzymatic activity of microbial transglutaminase. **Food Control**, v. 16, p. 735-737, 2005.

KURAIISHI, C.; SAKAMOTO, J.; YAMAZAKI, K.; SUSU, Y.; KUHARA, C.; SOEDA, T. Production of Restructured Meat using Microbial Transglutaminase without Salt or Cooking. **Journal of Food Science**, v.62, n.3. p.488-490, 1997.

LIMA, J. L. **Seleção de Actinomicetos para o Controle Biológico de *Ralstonia solonacearum* e Promoção de Crescimento de Plantas de Tomateira: 2003**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) -. Escola de Agronomia da Universidade Federal Rural da Bahia, Bahia.

LEE, C. M.; CHUNG, K. H. Analysis of surimi gel properties by compression and penetration tests. **Journal of Textura Studies**, v.20, p. 363, 1989.

LIMA, A.L.G.; NASCIMENTO, R. P.; BOM, E. S.; COELHO, R.R.R. Streptomyces drozdowiczii cellulase production using agro-industrial by-products and its potencial use in the detergent and textile industries. **Enzyme Microb. Technol.**, 37 (2): 272-277, 2005.

LOTEMBERG, AMP. **Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia v.53, n.5; 2009.

LOVELL, R.T. Foods from aquaculture. **Food Technology**, Chicago, v. 9, 1991.

MACEDO, J. A.; SATO, H. H. **PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA EM ALIMENTOS**. **Alim. Nutr.**, Araraquara v.16, n.4, p.413-419, out./dez. 2005

MACEDO-VIEGAS, E. M; SCORVO, C. M. D. F., VIDOTTI, R. M., SECCO, E. M. Efeito das classes de peso sobre a composição corporal e o rendimento de processamento de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.725-728, 2000.

MARTIN, C.A; ALMEIDA, V.V; RUIZ, M.R; VISENTAINER, JEL; MATSHUSHITA, M; SOUZA, NE; VISENTAINER, JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição., Campinas**, v.19, n.6, p.761-770, nov./dez., 2006.

MENDEZ M. H. M., DERIVI S. C. N., RODRIGUES M. C. R., FERNANDES M. L. e MONTEIRO, C. L. B. **Técnicas de Avaliação Sensorial**. Curitiba: 2ª ed., 1985.

MOTOKI, M; SEGURO, K. Transglutaminase and its use for food processing. Trends in **Food Science e Technol.**, v. 9, p. 204-210, 1998.

MOTOKI, M. KUMAZAWA, Y. Review: Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. **Food Science and Technology Research**, Tokyo, v.6, n.3, p.151-160, 2000.

NASCIMENTO, R.P.; Marques, S.; ALVES, L.; GÉRIO, F.; AMARAL – COLLACO, M.T.; SACRAMENTO, D. R.; BOM, E. P. S.; COELHO, R.R.R..Anovel strain of Straptomyces malaysiensis isolated from Brazilian soil produces high ind – B – 1,4 – xilanase titres. **World journal of Microbiology and Biotechninology**, Holanda, V. 19, p. 879 – 881, 2003.

- NATRAJAN, N.; SHELDON, B. W. Inhibition of Salmonella on poultry skin using protein and polysaccharide-based films containing a nisin formulation. **Journal of Food Protection**. Iowa, v.63, n.9, p.1268-1272, 2000.
- NEIVA, C.R.P. Aplicação da Tecnologia de Carne Mecanicamente Separada - CMS na Indústria de Pescado. 2009, São Paulo. **Anais**. INSTITUTO DE PESCA, APTA: SAA, 2009
- OGAWA, M. Surimi congelado (Pasta básica congelada). In: OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Livraria Varela, 1999. v. 1. p. 320-323.
- PADHYE, N. V. e DOYLE, M. P. Escherichia coli O157:H7: epidemiology, pathogenesis and methods for detection in food. **Journal of Food Protection**, v. 55, n.7, p.555-565. 1992.
- PASTERNAK, R. et al. Bacterial pro-transglutaminase from *Streptovercillium mobaraense*: purification, characterization and sequence of zymogen. **European Journal of Biochemistry**, v.257, p.570-576, 1998.
- PAYNE, T. **Transglutaminasa, una innovación tecnológica**. In: Ajinomoto Corporation Folder. 2000.a
- PAYNE, T. **Propriedades Básicas da Transglutaminase**. In: Ajinomoto corporation Folder. 2000.b
- PIGOT, G; TUCKER, B. **Sea food effects of technology on nutrition**, 1st edit, Edit Marcel Dekker, INC, New York, USA, 1990
- URENHA, Jr. **Peixes do Brasil- Salmão**. Edição 154. Rio de Janeiro: REVISTA PESCA E COMPANHIA, 2007. Disponível em: <www.google.com.br>. Acesso em 03 de Março de 2009.
- ROJAS, N. S.; PENY, D. A.; FREEDMAN, J. **Influence of Actinomycets an Frankia infection, nitrogenase activily and reedling groneth of red older**. Soil biology And Biochimistry, Oxford, V. 24, n. 10, p. 1043 – 1049. 1992.
- SOARES, V. F.; BOM, E. P. S. e SILVA Jr., J.G. Production and purification of protease of Bacillus subtilis. **Anais da XXX Reunião da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, V. 1, p- 123. 2001.
- SEYMOUR, T. A.; PETTERS, M. Y.; MORRISSEY, M. T.; HAEJUNG, A N. Surimi gel enhancement by bovine plasma protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 45, n. 8, 1997.
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U.C. Production, purification, characterization, and applications of lipases, **Biotechnol. Adv.** v 19, p 627-662, 2001.
- SÜHNEL, J. A. G. **Uso e avaliação de transglutaminase em reestruturado de peixeobtido com aparas de tilápia (*oreochromis sp*)**. 2007. Dissertação (Mestrado), curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SIMÃO, ANC, BARBOSA, D S, NUNES, L.B, GODENY, P, LOZOVY, MAB, DICI, I. Efeitos e mecanismos de ação dos ácidos graxos poliinsaturados N-3 na prevenção de doenças cardiovasculares. **Arquivo de Ciências da Saúde Unipar, Umuarama**, v. 11, n. 3, p. 225-233, set./dez. 2007.

SOUZA, G. F. V.; FLÔRES, S. H.; AYUB, M. A. Z. Optimization of medium composition for the production of transglutaminase by *Bacillus circulans* BL32 using statistical experimental methods. **Process Biochem.**, v. 41, p. 1186-1192, 2006.

STRYKER, J. C.; LANIER, T. C. Performance of a Calcium Sensitive Fungal Transglutaminase in Comminuted Meat Products. In: **IFT Annual Meeting.**, 1997.

TAHA, P. **Estudo de viabilidade técnico-econômica da produção de surimi.** 1996. 96 p. Dissertação (Mestrado em Eng. Produção) – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina.

TEIXEIRA, E., MEINERT, E. M., BARBETTA, P. **A Análise sensorial de alimentos.** Florianópolis: UFSC, 1987, 180 p.

TRESPALACIOS, P.; PLA, R. **Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels, Food Chemistry.**, Volume 100, Issue 1, p. 264-272, 2007.

TSENG, T. F.; LIU, D. D.; CHEN, M. T. Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. **Meat Science**, v. 55, n. 4, p. 427-431, 2000.

UFRGS. **Cultura de *Bacillus subtilis*.** 2008. 1 Fotografia, p&b. disponível em [www.ufrgs.br/agrofitossan/galeria/imagem/foros/908-streptomyces](http://www.ufrgs.br/agrofitossan/galeria/imagem/foros/908-streptomyces). acesso em 15 de janeiro de 2010.

URESTI, R. M.; VEKÁZQUEZ; RAMÍRES, J. A.; VÁZQUEZ, M.; TORRES, J. A. Effect of high pressure treatments on mechanical and functional properties of restructured products from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 84, p. 1741-1749, 2004.

USDA. Nutrient Data base for Standard Reference, Release: Dados de Nutrientes do Salmão *Salmo salar* L, 2001. Disponível em <<http://www.unifesp.br/dis/servicos/nutri/nutri.php?id=4407>> acesso em 22/06/2008.

WANG, S. L.; YEN, Y. H.; SHIH, I.L.; CHANG, A.C.; CHANG, W. T.; WU, W. C.; CHAI, Y.D. Production of xylanases from rice bran by *Streptomyces actuosus* A – 151. WHO - World Health Organization. Noncommunicable Diseases and Mental Health, World Health Organization. **Integrated management of cardiovascular risk: report of a WHO meeting.** Geneva, p. 9-12, July 2002.

YEAN, Y. S. The quality of surimi made from threadfin bream stored on ice for different periods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 28, p. 343-346, 1993.

ZHU, Y.; RINZEMA, A.; TRAMPER, J.; J. BOL. Microbial transglutaminase – a review of its production and application in food processing. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 44, p. 277-282, 1995.

## Anexo A

Protocolo nº \_\_\_\_\_

### PROTOCOLO DE EXPERIMENTAÇÃO ENVOLVENDO SERES HUMANOS

#### I. PESQUISADOR E OBJETIVOS:

Eu, Admilson Costa da Cunha, venho por meio desta, solicitar a liberação desta Comissão de Ética para experimentação humana visando realização de Teste Afetivo de Aceitabilidade de consumo de Medalhões de Salmão a ser realizado no Terceiro Andar do Pavilhão Central da UFRRJ.

A. Coordenador: Prof. Pesquisadora Mônica Caraméz Triches Damaso

B. Instituto: Tecnologia

Departamento: Tecnologia de Alimentos

Laboratório: Análise de Alimentos e Bebidas do Programa de Pós – Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Fone: (021) 94296605

E-mail: [admilsoncosta77@yahoo.com.br](mailto:admilsoncosta77@yahoo.com.br)

C. Título do Projeto: Avaliação dos efeitos da Aplicação de Transglutaminase Microbiana no Processamento de Medalhões de Salmão.

D. O protocolo é:

Novo       Revisão, anterior nº:       Renovação, anterior nº:

C. Descrição do objetivo(s) da Pesquisa.

#### OBJETIVO GERAL

Aplicar a transglutaminase em aparas de Salmão (*Salmo salar*) visando à obtenção de medalhões que serão analisados em termos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais para atender as necessidades qualitativas exigidas pela legislação na elaboração de novos produtos na indústria de alimentos.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir a transglutaminase por fermentação submersa com linhagem previamente selecionada;

- Elaborar medalhões de Salmão utilizando a transglutaminase comercial;
- Avaliar físico-quimicamente os medalhões produzidos;
- Avaliar os medalhões em termos microbiológicos e sensoriais.

F. Equipe:

ADMILSON COSTA DA CUNHA, Discente Mestrando, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Sob orientação da professora, DSc. Mônica Caraméz Triches Damaso. Professora Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos e Co-orientação da Professora, DSc. Arlene Gaspar, Professora do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, ambas docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

## **II. SUJEITOS E MÉTODOS**

A. Especificações do tipo de estudo:

Espera-se com este estudo o Desenvolvimento Científico, Tecnológico e Biotecnológico, assim como, o desenvolvimento de novos produtos a baixo custo na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

B. Local da Pesquisa:

Prédio Principal da UFRRJ.

C. Características gerais da população envolvida na pesquisa:

[112] número de indivíduos [18 a 65 anos] faixa etária  
[Saudável] estado geral de saúde [não treinado] outros

D. Critério de Exclusão:

Indivíduos que apresentem quaisquer sintomas de gripes ou rinites alérgicas, ou ainda com quaisquer outros sintomas de saúde que dificulte a apreciação do alimento quanto às características de cor, sabor, aroma e textura.

E. Descrição em detalhes e com destaque dos métodos que afetam os sujeitos do experimento:

O teste afetivo será realizado com um grupo de 112 consumidores (HOUGH, G.; WAKELING, I; MUCCI, A.; CHAMBERS, E. IV; GALLARDO, I.M.; ALVES, R.L., 2006), escolhidos aleatoriamente entre estudantes de graduação, professores e técnicos administrativos da UFRRJ. Todos sentados em cadeiras e mesas separadas contendo as amostras devidamente numeradas de Medalhão de Salmão com Enzima TGase comercial 0,5% e 1%, intitulada, respectivamente, de MS1 e MS2 e o padrão sem a enzima Comercial (MS3). Os provadores, de ambos os sexos e idade variando entre 18 a 65 anos receberão uma ficha para completar alguns dados pessoais e um documento informativo a respeito do projeto desenvolvido, bem como da sua concordância em participar dos testes de análise sensorial. Adicionalmente, cada provador também receberá uma ficha com atribuições variando de



“gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo” para qual foi utilizada a escala hedônica de 9 pontos (MENDEZ, et al., 1985) e um prato plástico com amostras devidamente codificados com pedaços retangulares de medalhões de salmão frito.

## ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

É relevante lembrar que, atendendo ao que estabelece a Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996) esta pesquisa será submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa – CEP da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e então, após a aprovação, a pesquisa de campo será efetivamente realizada. Os indivíduos serão entrevistados, apenas, mediante a assinatura do termo de consentimento (Anexo VII). Cabe destacar que é levado em consideração os princípios éticos de respeito pela autonomia das pessoas, bem como a obrigação ética de aumentar ao máximo os benefícios e não ocasionar danos à saúde do consumidor, portanto, é importante mencionar que, não há qualquer risco que comprometa a integridade física, mental ou moral dos entrevistados.

TERMO DE CONSENTIMENTO (De acordo com a Resolução 196 de 10/10/1996 do Conselho Nacional de Saúde)

Eu, \_\_\_\_\_, livremente participo da pesquisa “**Avaliação dos efeitos da Aplicação de Transglutaminase Microbiana no Processamento de Medalhões de Salmão (salmo salar).**” sob responsabilidade do estudante Admilson Costa da Cunha, Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, sob orientação da Profª. Drª Mônica Caraméz Triches Damaso da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Estou ciente do que se segue:

**Objetivo da pesquisa:** Aplicar a transglutaminase em aparas de Salmão (*Salmo salar*) visando à obtenção de medalhões que serão analisados em termos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais para atender as necessidades qualitativas exigidas pela legislação na elaboração de novos produtos na indústria de alimentos.

**Participação:** Responder às perguntas feitas pelos entrevistadores.

Riscos: Não haverá riscos para a integridade física, mental ou moral dos entrevistados.

**Benefícios:** As informações obtidas neste estudo poderão ser utilizadas para a melhoria das condições qualitativas de produção de Medalhões de Salmão, contribuindo desta forma na elaboração de novos produtos na indústria de alimentos.

**Privacidade:** Os nomes dos entrevistados, assim como os demais dados serão confidenciais. Os resultados coletivos serão codificados e divulgados nos meios científicos.

Rio de Janeiro, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2006.

F. Identificar

Indivíduos oriundos, em sua maioria, do município de Seropédica, e demais localidades da Baixada Fluminense, regiões localizadas a Oeste do Estado do Rio de Janeiro.

## III. DECLARAÇÃO DO PESQUISADOR

Estou familiarizado com os princípios aprovados pela COMEP UFRRJ em 08/10/2008. Concordo em aceitar essas normas na condução dos estudos descritos anteriormente.

Afirmo que esse estudo não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e a equipe que participará desse projeto foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos nesse protocolo.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

#### **IV. TERMO DE CONSENTIMENTO**

A. Descrição da atividade, com linguagem acessível, inserida no projeto de pesquisa que envolverá a participação da pessoa.

B. Manifestação clara de concordância com a participação de sua pessoa na pesquisa, ou no caso de menores de idade e pessoas de grupos vulneráveis, a clara autorização da referida participação através das pessoas responsáveis.

C. No caso de grande número de voluntários a autorização deverá ser realizada pelos responsáveis pelos grupos (diretos de escolas, líderes comunitários, pais e etc)

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

- PARECER DOS MEMBROS DA COMEP - UFRRJ

**ANEXO B**

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS MEDALHÕES DE SALMÃO  
TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL  
(PRODUTO MS1)**

**UMIDADE**

	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>Cap+Amseca</i> (g)	<i>m Amseca</i> (g)	<i>% Umidade</i>	<i>μ Umidade</i>	<i>Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>		
A	35,9873	3,0019	36,7863	0,7990	73,3835							
B	36,9090	3,0949	37,7291	0,8201	73,5016							
C	35,6793	3,0344	36,4708	0,7915	73,9158	73,6035	%	0,22831	0,31020	0,37752	0,51	4
D	56,2142	3,0735	57,0252	0,8110	73,6131							
E				0,0000								
						73,60	±	0,38				

**CINZAS**

	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>Cad+Cinzas</i> (g)	<i>m Cinzas</i> (g)	<i>% Cinzas</i>	<i>μ Cinzas</i>	<i>Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>		
A	48,4824	3,0915	48,5846	0,1022	3,3058							
B	45,1991	3,0538	45,2985	0,0994	3,2550							
C	44,5643	3,0165	44,6668	0,1025	3,3980	3,3194	%	0,05919	1,78	0,09787	2,95	4
D	38,1143	3,0102	38,2142	0,0999	3,3187							
E				0,0000								
						3,32	±	0,10				

**LIPÍDEOS**

	<i>M Balão</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>bal + lipídeos</i>	<i>m Lipídeos</i> (g)	<i>% Lipídeos</i>	<i>μ Lipídeos</i>	<i>Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>		
A	116,8822	10,0179	117,2319	0,3497	3,4908							
B	60,7236	10,0399	61,1530	0,4294								
C	52,3997	10,0138	52,7363	0,3366	3,3614	3,4261	%	0,09149	2,67	0,90366	26,38	2

D		0,0000	
E		0,0000	
		3,43	± 0,90

<b>PROTEÍNAS</b>	[HCl]	Fc HCl
	0,10	1,0825

	<i>M Amostra</i> (g)	<i>V HCl (mL)</i>	<i>% Nitrogênio</i>	<i>Fator Protéico</i>	<i>% PTN (BS)</i>	<i>% PTN</i>	<i>Desvio</i>					
							<i>μ PTN</i>	<i>Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>	
A	0,2507	18,90	11,4252	6,25	71,4074	18,849						
B	0,2551	18,90	11,2281	6,25	70,1758	18,524						
C	0,2556	19,30	11,4433	6,25	71,5208	18,879	18,7507	0,19691	1,05	0,51466	2,74	3
D	0,2566	5,10	3,0121	6,25	18,8256							
E							18,75	±	0,51			

**LEGENDA**

- Não alterar
- Alterar
- Selecionar
- Resultado final ± IC

	Kcal/100g			<b>Média</b>		<b>IC</b>
	105,8372	Calorias	Umidade	73,6	±	0,4
		G	Cinzas	3,3	±	0,1
	30,8345	G	Lipídeos	3,4	±	0,9
	75,0027	G	Proteínas	18,8	±	0,5

**ANEXO C**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS MEDAÇÕES DE SALMÃO**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(PRODUTO MS2)**

<b>UMIDADE</b>										
	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>Cap+Amseca</i> (g)	<i>M Amseca</i> (g)	<i>% Umidade</i>	<i>μ Umidade</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>
A	32,4647	3,0874	33,3359	0,8712	71,7821					
B	37,3893	3,0989	38,2693	0,8800	71,6028					
C	56,3751	3,0012	57,2092	0,8341	72,2078	71,9626	% 0,32110	0,45	0,5309	0,74
D	38,9075	3,0560	39,7553	0,8478	72,2579					
E				0,0000						
						71,96	± 0,53			
<b>CINZAS</b>										
	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>Cad+Cinzas</i> (g)	<i>M Cinzas</i> (g)	<i>% Cinzas</i>	<i>μ Cinzas</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>
A	39,7817	3,0440	39,8864	0,1047	3,4396					
B	42,0716	3,0513	42,1769	0,1053	3,4510					
C	41,5725	3,0222	41,6754	0,1029	3,4048	3,4509	% 0,04306	1,25	0,0712	2,06
D	41,8956	3,0270	42,0018	0,1062	3,5084					
E				0,0000						
						3,45	± 0,07			
<b>LIPÍDEOS</b>										
	<i>m Balão</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>bal + lipídeos</i>	<i>m Lipídeos</i> (g)	<i>% Lipídeos</i>	<i>μ Lipídeos</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>
A	63,5972	5,0932	63,7797	0,1825	3,5832					
B	52,4867	5,1142	52,6660	0,1793	3,5059					
C	60,7299	5,1015	60,9209	0,1910	3,7440	3,6110	% 0,12145	3,36	0,3174	8,79
D				0,0000						
E				0,0000						
						3,61	± 0,32			

PROTEÍNAS		[HCl]	Fc HCl								
		0,10	1,0825								
<i>M Amostra</i>	(g)	<i>V HCl (mL)</i>	<i>% Nitrogênio</i>	<i>Fator Protéico</i>	<i>% PTN (BS)</i>	<i>% PTN</i>	<i>μ PTN</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>
A	0,2519	17,70	10,6488	6,25	66,5551	18,660					
B	0,2522	18,30	10,9967	6,25	68,7293	19,270					
C	0,2552	18,20	10,8080	6,25	67,5502	18,939	18,9842	0,25526	1,34	0,42208	2,22
D	0,2507	18,00	10,8811	6,25	68,0071	19,067					
E			#DIV/0!	6,25							
							18,98	±	0,42		

**LEGENDA**

Não alterar						
Alterar						
Selecionar						
Resultado final ± IC						
	Kcal/100g				<b>Média</b>	<b>IC</b>
	108,4362	Calorias	Umidade	72,0	±	0,5
		G	Cinzas	3,5	±	0,1
	32,4994	G	Lipídeos	3,6	±	0,3
	75,9369	G	Proteínas	19,0	±	0,4

**ANEXO D**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS MEDAÇÕES DE SALMÃO**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(PRODUTO MS3)**

<b>UMIDADE</b>											
	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>Cap+Amseca</i> (g)	<i>M Amseca</i> (g)	<i>% Umidade</i>	<i>μ Umidade</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>	
A	37,2554	3,0324	38,0452	0,7898	73,9546						
B	34,1543	3,0580	34,9639	0,8096	73,5252						
C	35,3570	3,0505	36,1345	0,7775	74,5124	74,2175	0,59763	0,81	0,98819	1,33	
D	34,9180	3,0304	35,6793	0,7613	74,8779						
E				0,0000							
						74,22	±	0,99			
<b>CINZAS</b>											
	<i>M Cápsula</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>CAD+Cinzas</i> (g)	<i>M Cinzas</i> (g)	<i>% Cinzas</i>	<i>μ Cinzas</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>	
A	34,1061	3,0460	34,2014	0,0953	3,1287						
B	35,9627	3,0508	36,0592	0,0965	3,1631						
C	35,6066	3,0416	35,6997	0,0931	3,0609	3,1106	0,04467	1,44	0,07385	2,37	
D	49,6227	3,0778	49,7178	0,0951	3,0899						
E				0,0000							
						3,11	±	0,07			
<b>LIPÍDEOS</b>											
	<i>M Balão</i> (g)	<i>m Amostra</i> (g)	<i>bal + lipídeos</i>	<i>m Lipídeos</i> (g)	<i>% Lipídeos</i>	<i>μ Lipídeos</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>	
A	137,7550	10,0170	138,0142	0,2592							
B	104,7518	10,0386	105,0713	0,3195	3,1827						
C	121,5195	10,0070	121,8330	0,3135	3,1328	3,1578	0,03529	1,12	0,34856	11,04	
D				0,0000							
E				0,0000							
						3,16	±	0,35			

PROTEÍNAS		[HCl]	Fc HCl								
		0,10	1,0825								
	<i>M Amostra</i> (g)	<i>V HCl (mL)</i>	<i>% Nitrogênio</i>	<i>Fator Protéico</i>	<i>% PTN (BS)</i>	<i>% PTN</i>	<i>μ PTN</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>CV</i>	<i>IC (±)</i>	<i>% IC</i>
A	0,2518	18,80	11,3151	6,25	70,7193	18,233					
B	0,2579	18,90	11,1062	6,25	69,4139	17,897					
C	0,2541	18,60	11,0934	6,25	69,3337	17,876	18,0319	0,17438	0,97	0,28834	1,60
D	0,2520	18,70	11,2460	6,25	70,2873	18,122					
E			#DIV/0!	6,25							
							18,03	±	0,29		

LEGENDA	
Não alterar	
Alterar	
Selecionar	
Resultado final ± IC	

	Kcal/100g			<b>Média</b>	<b>IC</b>
	100,5	Calorias	Umidade	74,2 ±	1,0
		G	Cinzas	3,1 ±	0,1
	28,42	G	Lipídeos	3,2 ±	0,3
	72,13	G	Proteínas	18,0 ±	0,3



## ANEXO E

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA PERDAS DURANTE A FRITURA DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

MS1		MS2		MS3	
PI	PF	PI	PF	PI	PF
105,78	80,55	106,89	90,37	99,86	78,86
104,1	81,11	110,46	95,79	103,63	77,91
120,76	99,31	111,81	91,7	110,2	90,59
110,15	91,65	115,62	91,7	111,44	86,58

Tratamento	MS1	MS2	MS3
1ª rep	23,85	15,45	21,03
2ª rep	22,08	17,98	24,82
3ª rep	17,75	20,68	22,30
<b>Media</b>	21,23	18,04	22,72
<b>Desvio</b>	3,14	2,62	1,93
<b>CV%</b>	14,78448	14,5008	8,491782

#### RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Coluna 1	3	63,68	21,22667	9,848633
Coluna 2	3	54,11	18,03667	6,840633
Coluna 3	3	68,15	22,71667	3,721233

#### ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	34,2986	2	17,1493	2,520658	0,160469	5,143253
Dentro dos grupos	40,821	6	6,8035			
Total	75,1196	8				

**Não significativo, pois F calculado é maior do F crítico, ou p >0,05.**

## ANEXO F

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA ANÁLISE DE TEXTURA DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

<b>Tratamento</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
X da 1ª rep	0,43	0,51	0,57
X da 2ª rep	0,68	0,56	0,64
X da 3ª rep	0,76	0,80	0,50

#### RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
MS 1	3	1,87	0,623333	0,029633
MS 2	3	1,87	0,623333	0,024033
MS 3	3	1,71	0,570000	0,004900

#### ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	0,005689	2	0,002844	0,145703	0,867382	5,143253
Dentro dos grupos	0,117133	6	0,019522			
Total	0,122822	8				

#### Conclusão

Não há diferença estatística significativa entre um grupo e outro com relação a este atributo, pois F calculo é menor que Fcrítico à 95% de probabilidade

<b>Tratamento</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
X da 1ª rep	0,68	0,51	0,57
X da 2ª rep	0,76	0,56	0,64
X da 3ª rep	0,43	0,80	0,50
Média	0,62	0,62	0,57
Desvio padrão	0,0566	0,1550	0,0700
CV %	9,1	24,9	12,3
IC (95,45%)	0,15	0,41	0,18

<b>MS 1</b>	0,62	±	0,15
<b>MS 2</b>	0,62	±	0,41
<b>MS 3</b>	0,57	±	0,18

## ANEXO G

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA ANÁLISE DE UMIDADE DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

ANÁLISE DE UMIDADE			
Tratamento	MS1	MS2	MS3
1ª rep	73,38	71,78	73,95
2ª rep	73,5	71,6	73,52
3ª rep	73,91	72,21	74,51
4ª rep	73,61	72,26	74,88
<b>MEDIA</b>	73,60	71,96	74,22
<b>DESVIO</b>	0,23	0,32	0,60
<b>CV %</b>	0,3	0,4	0,8

#### RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Coluna 1	4	294,4	73,6	0,051533
Coluna 2	4	287,85	71,9625	0,104825
Coluna 3	4	296,86	74,215	0,360833

#### ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	10,84452	2	5,422258	31,45212	8,68E-05	4,256495
Dentro dos grupos	1,551575	9	0,172397			
Total	12,39609	11				

**Existe diferença significativa entre os tratamentos, pois o F calculado é maior do que o F crítico.**

$$DMS = D * \sqrt{QMres/J}$$

$$dms = 0,291683$$

$$D = 2,81$$

$$J = 16$$

$$Qmres = 0,172397$$

	X	dms	-	+	
MS1	73,60	0,29	73,31	73,89	b
MS2	71,96	0,29	71,67	72,25	c
MS3	74,22	0,29	73,93	74,51	a

## ANEXO H

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA ANÁLISE DE CINZAS DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

<b>ANÁLISE DE CINZAS</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
1ª rep	3,3058	3,4396	3,1287
2ª rep	3,255	3,451	3,1631
3ª rep	3,398	3,4048	3,0609
4ª rep	3,3187	3,5084	3,0899
<b>MEDIA</b>	3,32	3,45	3,11
<b>DESVIO</b>	0,06	0,04	0,04
<b>CV%</b>	1,8	1,2	1,4

#### RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
MS1	4	13,2775	3,319375	0,003504
MS2	4	13,8038	3,45095	0,001853
MS3	4	12,4426	3,11065	0,001994

#### ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	0,235576	2	0,117788	48,07167	1,57E-05	4,256495
Dentro dos grupos	0,022052	9	0,00245			
Total	0,257629	11				

**Existe diferença significativa entre os tratamentos, pois o F calculado é maior do que o F crítico**

$$DMS = D * \sqrt{QMres/J}$$

$$dms = 0,2411$$

$$D = 2,81$$

$$J = 16$$

$$Qmres =$$

$$0,172397$$

$$0,117788$$

	X	dms	-	+	
MS1	3,32	0,24	3,08	3,56	<b>ab</b>
MS2	3,45	0,24	3,21	3,69	<b>a</b>
MS3	3,11	0,24	2,87	3,35	<b>b</b>

## ANEXO I

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA ANÁLISE DE LIPÍDEOS DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

ANÁLISE DE LIPÍDEO			
Tratamento	MS1	MS2	MS3
1ª rep	3,4908	3,5832	3,1827
2ª rep	3,3614	3,5059	3,1328
3ª rep		3,744	
<b>MEDIA</b>	3,43	3,54	3,16
<b>DESVIO</b>	0,09	0,05	0,04
<b>CV%</b>	2,7	1,5	1,1

#### RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
MS1	2	6,8522	3,4261	0,008372
MS2	2	7,0891	3,54455	0,002988
MS3	2	6,3155	3,15775	0,001245

#### ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,157104	2	0,078552	18,69572	0,020242	9,552094
Dentro dos grupos	0,012605	3	0,004202			
Total	0,169709	5				

**Existe diferença significativa entre os tratamentos, pois o F calculado é maior do que o F crítico.**

$$DMS = D * \sqrt{QMres/J}$$

$$dms = 0,053314$$

$$D = 3,29$$

$$J = 16$$

$$Qmres = 0,004202$$

	X	dms	-	+	
MS1	3,43	0,05	3,38	3,48	b
MS2	3,54	0,05	3,49	3,59	a
MS3	3,16	0,05	3,11	3,21	c

## ANEXO J

### TESTES ESTATÍSTICOS PARA ANÁLISE DE PROTEÍNA DOS MEDALHÕES TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL

ANÁLISE DE PROTEÍNA			
Tratamento	MS1	MS2	MS3
1ª rep	18,849	18,66	17,897
2ª rep	18,524	18,939	17,876
3ª rep	18,879	19,067	18,122
MÉDIA	18,75	18,80	17,89
DESVIO	0,20	0,21	0,14

#### RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
MS1	3	56,252	18,75067	0,038758
MS2	3	56,666	18,88867	0,043312
MS3	3	53,895	17,965	0,018597

#### ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,489476	2	0,744738	22,19396	0,001688	5,143253
Dentro dos grupos	0,201335	6	0,033556			
Total	1,690812	8				

**Existe diferença significativa entre os tratamentos, pois o F calculado é maior do que o F crítico.**

$$DMS = D * \sqrt{QMres/J}$$

$$dms = 0,668811$$

$$D = 3,10$$

$$J = 9$$

$$Qmres = 0,033556$$

	X	dms	-	+	
MS1	18,75	0,67	18,08	19,42	A
MS2	18,80	0,67	18,13	19,47	A
MS3	17,89	0,67	17,22	18,56	B

**ANEXO L**  
**FICHA PARA TESTE DE ACEITABILIDADE**

Nome \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

Prezado consumidor, você está recebendo 3 amostras codificadas de medalhão de salmão frito. Por favor, avalie as amostras e diga o quanto você gostou ou desgostou, segundo a escala abaixo:

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 - desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

<b>Atributos</b>	<b>Amostra M1</b>	<b>Amostra M2</b>	<b>Amostra M3</b>
Aparência global			
Aroma			
Sabor			
Textura			

Você compraria este produto 109 Sim  3 Não

Comentário: \_\_\_\_\_

Obrigado!

**ANEXO M**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TESTE DE ACEITABILIDADE DOS MEDALHÕES**  
**DE SALMÃO**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(APARÊNCIA MS1, MS2 e MS3)**

<b>APARENCIA</b>			
<b>PROVADORES</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
1	7	9	8
2	9	8	3
3	9	6	8
4	7	9	3
5	9	8	9
6	9	8	7
7	7	6	5
8	8	3	5
9	6	8	7
10	8	9	7
11	9	6	7
12	8	9	7
13	8	9	7
14	5	5	5
15	8	8	9
16	9	8	8
17	6	9	8
18	8	9	7
19	8	9	8
20	8	9	8
21	8	9	8
22	7	9	8
23	8	7	9
24	7	9	7
25	8	9	8
26	7	8	7
27	8	8	8
28	6	5	7
29	6	7	6
30	9	9	9
31	7	9	9
32	6	8	6
33	7	9	7
34	9	9	9
35	8	9	8
36	6	8	9
37	4	5	5



38	4	4	4
39	4	4	6
40	5	6	8
41	8	8	9
42	8	7	9
43	8	9	9
44	9	8	8
45	9	7	8
46	8	9	8
47	9	9	9
48	7	8	8
49	7	6	6
50	8	8	8
51	8	8	7
52	8	9	6
53	8	9	8
54	8	9	8
55	8	8	9
56	8	8	8
57	9	9	9
58	8	9	8
59	9	9	9
60	7	9	9
61	9	9	6
62	8	9	8
63	8	9	9
64	9	8	7
65	7	8	9
66	7	8	8
67	9	9	9
68	8	7	9
69	7	8	8
70	4	8	7
71	9	9	9
72	8	8	8
73	8	8	8
74	9	9	9
75	8	9	8
76	7	7	7
77	8	7	7
78	8	9	6
79	9	7	7
80	7	5	5
81	7	8	6
82	8	7	9

83	9	8	8
84	7	7	7
85	8	9	7
86	8	8	7
87	7	7	7
88	8	8	8
89	5	6	8
90	6	8	9
91	9	7	7
92	9	6	7
93	9	7	8
94	9	5	3
95	7	8	7
96	9	7	8
97	8	7	7
98	7	9	6
99	8	8	7
100	3	3	4
101	8	9	6
102	7	6	7
103	8	8	6
104	7	8	8
105	9	8	8
106	8	8	8
107	8	9	7
108	8	8	8
109	9	8	7
110	6	8	8
111	6	9	5
112	9	9	9

### APARÊNCIA

Anova: fator único

#### RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Coluna 1	112	853	7,616071	1,6801
Coluna 2	112	874	7,803571	1,907014
Coluna 3	112	828	7,392857	1,952381

#### ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>Gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	9,470238	2	4,735119	2,564378	0,078486	3,022845
Dentro dos grupos	614,8839	333	1,846498			
Total	624,3542	335				

**O VALOR DE F CALCULADO É MENOR DO QUE O VALOR DO F CRÍTICO, PORTANTO NÃO É SIGNIFICATIVO.**

**ANEXO N**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TESTE DE ACEITABILIDADE DOS MEDALHÕES**  
**DE SALMÃO**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(AROMA MS1, MS2 e MS3)**

<b>AROMA</b>			
<b>PROVADORES</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
1	4	9	6
2	5	5	5
3	9	5	5
4	8	8	7
5	9	9	9
6	6	6	6
7	6	6	5
8	8	8	7
9	6	8	8
10	9	9	6
11	7	8	8
12	6	7	8
13	9	8	7
14	7	8	7
15	8	8	9
16	8	8	8
17	6	9	6
18	8	9	5
19	8	9	8
20	8	9	9
21	8	9	9
22	8	9	8
23	9	7	8
24	5	9	6
25	8	9	8
26	8	9	8
27	8	8	8
28	6	5	7
29	7	7	8
30	5	5	9
31	9	9	9
32	6	6	4
33	8	9	8
34	5	5	5
35	7	7	7
36	8	5	8
37	7	6	5

38	4	4	5
39	5	8	9
40	3	6	7
41	7	8	9
42	7	7	8
43	7	7	9
44	8	8	7
45	7	6	6
46	8	9	8
47	8	8	8
48	7	8	8
49	7	8	6
50	9	9	9
51	9	9	8
52	9	8	8
53	9	9	8
54	8	9	9
55	9	8	8
56	9	9	9
57	9	9	9
58	8	8	8
59	9	8	9
60	6	8	8
61	8	9	6
62	9	8	9
63	9	9	9
64	8	7	4
65	8	9	8
66	9	7	8
67	9	8	9
68	8	9	7
69	8	8	8
70	5	8	7
71	6	6	6
72	9	8	9
73	9	6	8
74	7	9	9
75	8	9	6
76	7	8	7
77	7	7	6
78	8	9	7
79	6	6	9
80	4	3	6
81	8	9	6
82	9	7	9

83	8	9	9
84	8	7	7
85	7	7	7
86	5	5	5
87	8	7	7
88	8	8	8
89	7	5	8
90	9	9	7
91	8	9	8
92	9	7	7
93	7	8	6
94	4	7	3
95	7	7	7
96	5	5	5
97	8	9	7
98	5	7	7
99	6	6	6
100	7	6	7
101	8	8	8
102	9	5	8
103	9	9	8
104	7	8	8
105	8	8	8
106	6	6	6
107	8	7	7
108	9	9	9
109	8	8	8
110	9	9	9
111	7	8	9
112	8	8	7

**Anova: fator único**

**AROMA**

**RESUMO**

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Coluna 1	112	830	7,410714	2,04601
Coluna 2	112	851	7,598214	1,936213
Coluna 3	112	826	7,375	1,858108

**ANOVA**

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	3,220238	2	1,610119	0,827069	0,438226	3,022845
Dentro dos grupos	648,2768	333	1,946777			

Total 651,497 335

**O VALOR DE F CALCULADO É MENOR DO QUE O VALOR DO F CRÍTICO, PORTANTO, NÃO É SIGNIFICATIVO.**

**ANEXO O**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TESTE DE ACEITABILIDADE DOS MEDAÇÕES DE**  
**SALMÃO**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(SABOR MS1, MS2 e MS3)**

<b>SABOR</b>			
<b>PROVADORES</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
1	8	8	5
2	7	8	5
3	4	8	5
4	8	9	6
5	4	6	9
6	8	4	4
7	8	7	3
8	9	9	8
9	8	9	8
10	6	9	5
11	5	8	9
12	9	8	7
13	8	9	8
14	7	8	8
15	8	8	9
16	7	9	8
17	7	9	5
18	8	9	4
19	7	8	8
20	7	7	6
21	7	8	7
22	6	8	8
23	9	8	6
24	6	9	9
25	8	9	6
26	9	9	8
27	7	8	8
28	6	6	7
29	7	7	8
30	9	8	9
31	9	9	9
32	6	9	5
33	8	9	8
34	7	8	6
35	9	7	8
36	7	8	6

37	6	7	6
38	9	9	8
39	8	9	7
40	6	8	9
41	7	8	8
42	9	7	9
43	8	8	9
44	9	8	8
45	9	6	7
46	7	9	8
47	8	9	9
48	9	8	8
49	8	8	5
50	8	7	7
51	9	9	9
52	8	9	6
53	8	9	7
54	9	9	8
55	9	9	9
56	9	9	8
57	9	9	9
58	9	9	9
59	9	9	7
60	7	8	8
61	9	9	5
62	8	9	7
63	9	9	8
64	9	5	5
65	9	9	9
66	8	9	9
67	9	9	7
68	9	8	7
69	9	9	9
70	3	8	7
71	8	9	8
72	9	8	9
73	9	8	9
74	8	8	8
75	7	9	4
76	6	7	7
77	6	7	8
78	9	9	6
79	9	9	8
80	7	8	9
81	6	8	8

82	9	7	5
83	9	7	9
84	8	7	8
85	8	9	8
86	8	9	7
87	8	9	8
88	8	8	8
89	8	4	7
90	8	9	8
91	8	8	8
92	9	8	7
93	8	9	6
94	7	8	2
95	8	8	7
96	8	9	7
97	8	9	5
98	3	7	6
99	8	7	6
100	4	4	7
101	8	9	8
102	8	5	7
103	9	8	9
104	6	8	8
105	9	9	6
106	9	9	9
107	9	9	8
108	8	8	8
109	9	9	9
110	8	8	9
111	8	9	9
112	7	8	7

### SABOR

#### Anova: fator único

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Coluna 1	112	869	7,758929	1,806226
Coluna 2	112	909	8,116071	1,274694
Coluna 3	112	819	7,3125	2,288851

#### ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	36,30952	2	18,15476	10,14276	5,3E-05	3,022845
Dentro dos grupos	596,0446	333	1,789924			
Total	632,3542	335				

**O VALOR DE F CALCULADO É MAIOR DO QUE O VALOR F CRÍTICO, PORTANTO, É SIGNIFICATIVO.**



**ANEXO P**  
**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TESTE DE ACEITABILIDADE DOS MEDAÇÕES DE**  
**SALMÃO E CORRELAÇÃO DE PEARSON PARA TEXTURA**  
**TABELA DE DADOS GERADA NO EXCEL**  
**(MS1, MS2 e MS3)**

<b>TEXTURA</b>			
<b>PROVADORES</b>	<b>MS1</b>	<b>MS2</b>	<b>MS3</b>
1	9	9	3
2	9	9	6
3	8	8	7
4	8	8	7
5	9	9	9
6	6	6	3
7	7	6	2
8	8	9	6
9	6	9	6
10	7	9	8
11	7	9	9
12	8	9	9
13	6	8	6
14	7	7	9
15	8	8	9
16	8	7	8
17	7	9	4
18	8	9	6
19	7	8	8
20	7	8	7
21	7	8	6
22	4	9	6
23	9	7	7
24	6	9	5
25	8	9	6
26	8	9	9
27	7	8	8
28	7	6	7
29	7	8	7
30	9	9	9
31	9	9	9
32	7	9	6
33	9	9	8
34	9	9	5
35	7	8	7
36	7	6	7
37	5	5	5
38	9	9	9
39	9	8	7
40	7	7	8

41	8	8	8
42	8	7	8
43	6	7	8
44	8	9	7
45	8	6	8
46	7	8	7
47	6	8	9
48	9	8	7
49	6	7	6
50	8	8	7
51	9	8	7
52	9	9	6
53	9	9	6
54	8	8	8
55	8	9	8
56	9	9	9
57	9	9	9
58	9	9	9
59	9	8	8
60	8	8	9
61	9	8	6
62	9	9	8
63	9	9	9
64	6	7	8
65	9	9	9
66	7	8	9
67	8	7	8
68	7	8	9
69	8	8	8
70	3	8	7
71	9	9	9
72	7	9	9
73	9	9	9
74	7	8	9
75	8	9	4
76	7	7	7
77	7	6	6
78	8	9	9
79	9	8	4
80	3	8	9
81	7	9	5
82	9	7	9
83	6	8	8
84	8	7	8
85	8	9	7
86	8	9	7
87	8	9	9
88	7	8	6

89	6	7	9
90	9	8	7
91	9	9	9
92	9	7	4
93	7	9	5
94	7	6	3
95	8	8	7
96	8	9	4
97	9	9	4
98	5	6	7
99	7	8	6
100	6	6	7
101	8	9	7
102	8	6	8
103	9	8	8
104	7	8	8
105	8	8	7
106	8	8	8
107	7	6	6
108	9	8	8
109	8	9	9
110	7	8	9
111	8	9	9
112	8	8	6

## TEXTURA

Anova: fator único

### RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
Coluna 1	112	856	7,642857	1,583012
Coluna 2	112	903	8,0625	1,014077
Coluna 3	112	807	7,205357	2,777268

### ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	41,14881	2	20,5744	11,48476	1,5E-05	3,022845
Dentro dos grupos	596,5536	333	1,791452			

Total 637,7024 335

**O VALOR DE F CALCULADO É MAIOR DO QUE O VALOR F CRÍTICO, PORTANTO, É SIGNIFICATIVO.**

### CORRELAÇÃO DE PEARSON PARA TEXTURA

Tratamentos	Textura instrumental	Textura atribuída	Coeficiente de correlação
	( $\mu$ )	pelos provadores ( $\mu$ )	
MS1	0,62	7,64	0,869401527
MS2	0,62	8,06	
MS3	0,57	7,21	
Total	0,60	7,64	